N° 8

LA RÉACTION DE FIXATION DE BORDET-GENGOU

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES PROPRIÉTÉS SENSIBILISATRICES ET ANTIHÉMOLYTIQUES DU SÉRUM ANTITYPHIQUE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 21 Juillet 1908

PAR

Wladimir SANADZÉ

Né à Choni (Koutaïs-Caucase) Russie, le 1er mai 1877

Pour obtenir le grade de Docteur d'Université

(MENTION MÉDECINE)

MONTPELLIER

IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI

Rue Ferdinand-Fabre et quai du Verdansor

1908

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. MAIRET (✻) . . . . . DOYEN
SARDA . . . . . ASSESSEUR

Professeurs

Clinique médicale	MM.	GRASSET (✻)
Clinique chirurgicale		TEDENAT (✻).
Thérapeutique et matière médicale. . . .		HAMELIN (✻)
Clinique médicale		CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerv.		MAIRET (✻).
Physique médicale.		IMBERT.
Botanique et hist. nat. méd.		GRANEL.
Clinique chirurgicale.		FORGUE (✻)
Clinique ophtalmologique.		TRUC (✻).
Chimie médicale.		VILLE.
Physiologie.		HEDON.
Histologie		VIALLETON
Pathologie interne		DUCAMP.
Anatomie.		GILIS.
Clinique chirurgicale infantile et orthop.		ESTOR.
Microbiologie		RODET.
Médecine légale et toxicologie		SARDA.
Clinique des maladies des enfants		BAUMEL.
Anatomie pathologique		BOSC.
Hygiène.		BERTIN-SANS (H.)
Pathologie et thérapeutique générales . .		RAUZIER.
Clinique obstétricale.		VALLOIS.

Professeurs adjoints : MM. DE ROUVILLE, PUECH
Doyen honoraire : M. VIALLETON
Professeurs honoraires : MM. E. BERTIN-SANS (✻), GRYNFELTT
M. H. GOT, *Secrétaire honoraire*

Chargés de Cours complémentaires

Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées	MM.	VEDEL, agrégé.
Clinique annexe des mal. des vieillards. .		VIRES, agrégé.
Pathologie externe		LAPEYRE, agr. lib.
Clinique gynécologique.		DE ROUVILLE, prof. adj.
Accouchements.		PUECH, Prof. adj.
Clinique des maladies des voies urinaires		JEANBRAU, agr.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie		MOURET, agr. libre.
Médecine opératoire.		SOUBEYRAN, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. GALAVIELLE	MM. SOUBEYRAN	MM. LEENHARDT
VIRES	GUERIN	GAUSSEL
VEDEL	GAGNIERE	RICHE
JEANBRAU	GRYNFELTT Ed.	CABANNES
POUJOL	LAGRIFFOUL.	DERRIEN

M. IZARD, *secrétaire.*

Examinateurs de la Thèse

MM. RODET, *président.*
BOSC, *professeur.*
MM. VEDEL, *agrégé.*
LAGRIFFOUL, *agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation

A MA SŒUR VARWARA

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR RODET

W. SANADZÉ.

INTRODUCTION

Depuis l'expérience de M. Pfeiffer, on connaît que les vibrions cholériques injectés dans la cavité péritonéale d'un cobaye ou d'un lapin hypervaccinés contre le choléra, s'immobilisent d'abord, se transforment en granules ensuite et se dissolvent finalement dans le liquide péritonéal en dehors des cellules.

Le même phénomène se produit *in vitro,* si on mélange simplement du choléra-sérum frais à une émulsion de vibrions cholériques.

On connaît aussi, depuis les travaux de M. Bordet, que ce phénomène est le résultat d'action combinée sur les vibrions, de deux substances bien distinctes : l'une, la *sensibilisatrice,* agit spécifiquement sur les corps microbiens, se fixe sur eux, les prépare, les sensibilise à l'action d'une autre substance *l'alexine,* non spécifique, peu active par elle-même, dont elle exagère considérablement l'action nocive à l'égard de ces éléments.

Le problème de l'immunité semblait enfin résolu. En effet, le rôle de la sensibilisatrice dans la bactériolyse étant ainsi établi, il était permis d'espérer que tous les microbes mis au contact de l'immunsérum correspondant nous présenteraient le même phénomène de Pfeiffer. Or, la plupart des microbes ne se laissent pas détruire ni même morphologiquement modifier au contact de sérum

d'animaux même fortement immunisés ; et cependant la méthode de la réaction de fixation de Bordet aurait permis aux expérimentateurs la découverte d'une sensibilisatrice presque dans tous les immunsérums.

En présence de ce défaut de concordance entre le pouvoir sensibilisateur et le pouvoir bactéricide, entre ces deux pouvoirs qui se confondaient au moins théoriquement dans notre conception sur le mécanisme de l'immunité, il nous était permis de nous poser les questions suivantes :

1° Les immunsérums ne contiennent-ils pas quelques substances autres que la sensibilisatrice, qui, s'emparant de l'alexine du mélange, empêchent à cette dernière substance active de porter en totalité son action destructive sur les microbes sensibilisés ?

2° La réaction de fixation de Bordet-Gengou, manifestement positive dans un sérum, traduit-elle nécessairement la présence de la sensibilisatrice dans ce sérum ?

3° Par quels moyens de défense, la plupart des microbes résistent-ils à l'action combinée de la sensibilisatrice et de l'alexine ?

Cette dernière question est certainement la plus importante, mais dans notre travail de début, il nous était impossible d'aborder un problème aussi complexe. Nous n'avons choisi, comme sujet de notre thèse si modeste, qui terminera notre vie d'étudiant, que l'étude des deux premières questions.

Nous avons fait quelques dizaines d'expériences avec les différents sérums : plusieurs échantillons de sérum antityphique de M. Rodet, les sérums antidiphtérique, antitétanique, les sérums des animaux neufs (lapin, cobaye, mouton et cheval), les sérums des convalescents de la fièvre typhoïde, le sérum des syphilitiques, et nous avons observé

une concordance parfaite dans les résultats obtenus ; c'est pourquoi nous avons cru superflu de reproduire dans cette thèse toutes les expériences que nous avons pu faire pendant plusieurs mois de travail et toutes les explications que ces expériences auraient entraîné nécessairement. Pour plus de netteté, nous n'avons choisi que quelques-unes de nos expériences. Mais pour être toujours exact dans la reproduction de l'ensemble des résultats, nous indiquons, après chaque expérience insérée dans cet ouvrage, les cas où les résultats n'étaient pas semblables.

Ce travail comprendra trois parties :

Dans la première partie, nous donnerons le résumé des recherches qui ont amené les découvertes des diverses propriétés des immunsérums et des sérums neufs.

Nous terminerons cette partie par la description de la méthode de la réaction de fixation de Bordet.

Dans la deuxième partie, nous traiterons ces deux questions dont nous avons entrepris l'étude.

Nous consacrerons la troisième partie à quelques considérations purement théoriques qui nous ont été suggérées par le résultat de nos recherches et qui nous sont personnelles.

Mais nous manquerions à notre devoir si, avant d'ouvrir le premier chapitre de notre ouvrage, nous ne jetions un regard reconnaissant vers ceux qui nous ont facilité l'accomplissement de notre tâche.

Lorsque, à la veille de terminer nos études médicales, nous nous sommes demandé de quel côté nous devions diriger nos recherches, notre éminent maître, M. le professeur Rodet, nous a indiqué cette voie.

Il a eu la complaisance de nous permettre d'accomplir nos expériences dans son laboratoire.

Il nous a bienveillamment offert les divers échantillons

de ses sérums antityphiques qui nous ont servi pour nos études.

Il a suivi notre travail avec un intérêt tout particulier, et n'a jamais cessé de nous prodiguer ses conseils si précieux.

Que notre respecté maître daigne accepter l'hommage reconnaissant de l'élève qui lui gardera un inaltérable souvenir.

Nous ne saurions de même trop remercier ici M. le professeur Lagriffoul, pour l'amabilité dont il a fait preuve à notre égard, et l'assistance qu'il nous a prêtée au début de nos expériences.

Nous remercions aussi M. le professeur-agrégé Vedel, pour le sérum de syphilitique, et M. Rimbaud pour le sérum de typhique, qu'ils ont bien voulu nous donner.

LA

RÉACTION DE FIXATION

DE BORDET-GENGOU

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES PROPRIÉTÉS SENSIBILISATRICES ET ANTIHÉMOLYTIQUES DU SÉRUM ANTITYPHIQUE

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

PROPRIÉTÉS BACTÉRIOLYTIQUES DES SÉRUMS

Il n'y a que vingt ans que le pouvoir bactéricide du sang a été signalé par les expérimentateurs. Les premières constatations de cet ordre ne remontent, en effet, qu'à 1887. C'est à MM. Von Christmas-Dirckinck-Holmfeld, Emerich et Fodor que revient le mérite d'avoir été les premiers qui ont découvert cette nouvelle voie de recherches. En opérant sur les animaux réfractaires pour le charbon, Von Christmas-Dirkinck-Holmfeld dit : «... Quoiqu'elles n'aient été ni déglutiés, ni digérées par les leucocytes, les bactéries inoculées à un animal réfractaire sont rapidement détruites. Si chez un rat adulte, on examine

le produit sécrété au point de l'inoculation, 24 heures après que celle-ci a été faite, on constate que les filaments commencent à se fragmenter... Si l'on examine le pus du rat 24 heures plus tard, les filaments bacillaires ont perdu presque complètement leur réfringence ; ils se réduisent en granulations ou en segments très courts, irréguliers. A ce moment déjà, les tentatives de culture échouent presque constamment... Le pus exerce donc une action destructive sur les bacilles, mais sans que la phagocytose y intervienne : il s'agit là d'un processus chimique, dont la nature nous est encore inconnue. »

M. Emerich a fait des constatations analogues. Il inocule des bactéridies charbonneuses aux lapins qui ont subi, deux ou trois jours auparavant, une inoculation de l'érysipèle. Six heures après l'inoculation, il retrouve les bactéridies charbonneuses en petit nombre dans les environs immédiats du point d'inoculation, en pleine régression et à demi détruites. « La destruction des bacilles, dit M. Emerich, serait due à une action chimique, à une action toxique, engendrée par les cellules. »

Mais ce n'est que M. Fodor qui observe ce phénomène dans le sang même des animaux.

En injectant des cultures de bactéridies charbonneuses directement dans les veines du lapin, ou bien en les ensemençant dans le sang retiré de l'organisme, il avait pu se convaincre d'une destruction très rapide d'un grand nombre des bactéridies introduites.

Les expériences de M. Fodor ont été reprises sur une échelle beaucoup plus étendue par M. Nuttall.

En examinant soit le sang, soit les sérosités péricardique et pleurale, soit enfin l'humeur aqueuse de diverses espèces animales (grenouille, poule, pigeon, souris, lapin, chien) et de l'homme, M. Nuttall a observé que les bactéri-

dies charbonneuses, *bacillus subtilis* et *megaterium*, mis en contact avec ces liquides, y subissaient une dégénérescence et périssaient plus ou moins totalement sans intervention des leucocytes.

« Nous sommes donc conduit, dit M. Nuttall, à présumer que les bacilles pris par les leucocytes n'étaient déjà plus normaux, et *que c'est dans le liquide qui entoure les cellules qu'il faut chercher la cause de destruction.* » Et il attribue cette propriété du sang, « soit à une substance très volatile ou très instable, soit, ce qui est plus vraisemblable, à une action de diastase ». Il démontre que les propriétés bactéricides du sang sont abolies par un chauffage de 50° à 55°.

M. Nissen a observé que le coccus aquatilis, vibrion cholérique, bacille typhique, sont détruits par le sang défibriné de lapin et de chien.

Il a confirmé l'influence du chauffage sur la faculté microbicide du sang ; et *il a démontré que le sérum sanguin du cheval exerce la même action bactéricide que le sang.*

M. Behring et M. Flügge publièrent des faits analogues.

M. Büchner a repris les recherches de M. Nuttall sur le pouvoir bactéricide du sang.

En étudiant l'influence du sang défibriné et du sérum sur le *bacillus pyocyaneus*, bacille typhique et du choléra, le bactérium coli commun et le *bacillus fœtidus*, il a confirmé les faits annoncés par Nuttall et Nissen.

En soumettant du sérum à une série de congélations et de dégels successifs, il arrive de le séparer en deux couches : une inférieure, qui contient les parties les plus riches en matériaux solides et une supérieure qui ne contient que les parties les plus aqueuses ; et il constate que, seule, la couche inférieure tue les bacilles, tandis que la couche supérieure en permet la multiplication immédiate.

Ce fait lui fait penser que *c'est la matière albuminoïde qui est la substance active du sérum.*

En soumettant du sérum à la dyalyse, M. Buchner avec M. Orthenberger ont constaté que le sérum dyalysé perdait toutes ses propriétés ; et comme elles ne se retrouvaient pas non plus dans le liquide de dyalyse, ils ont attribué ce fait à la perte des sels solubles subie par le sérum. L'expérience appropriée les a conduits à la conclusion, que *cette propriété des sérums est liée à sa teneur en sels et que ceux-ci agissent, non pas directement, mais en ce qu'ils interviennent dans la composition normale et par là dans les propriétés des matières albuminoïdes du sérum.*

M. Büchner a remarqué, en outre, que le sang gardait à peu près intacte l'action destructive qu'il avait à l'origine pendant sept, quinze et même vingt jours, soit à chaud, soit à froid. A ces substances bactéricides, M. Büchner donne le nom *d'alexines.*

En poursuivant les recherches dans ce sens, on s'est aperçu bientôt que les sérums des animaux réfractaires naturellement et des animaux immunisés, étaient plus bactéricides que les sérums des animaux réceptifs.

C'est M. Charrin qui l'a observé pour la première fois.

M. Behring avec M. Nissen ont observé que le sérum des cobayes vaccinés contre le *Vibrio Metchnikowii* tuait tous ces vibrions au bout de trois à cinq heures, tandis que le sérum préparé avec du sang de cobayes neufs présentait un milieu de culture très favorable pour les mêmes vibrions.

Ces constatations ne tardèrent pas à amener la découverte d'un nouveau pouvoir des sérums des vaccinés, le pouvoir préventif.

En effet, on a remarqué que les sérums des vaccinés ou

des animaux jouissant de l'immunité naturelle, injectés à des animaux réceptifs, en même temps que les microbes qui ont servi à l'immunisation, préservaient ces animaux contre l'action nocive de ces microbes.

C'est ainsi que M. Ogata et M. Jasuhara préservaient du charbon et du rouget du porc, les souris blanches et les cobayes, en leur injectant du sérum des animaux qui ont l'immunité naturelle contre le charbon (la grenouille, le rat, le chien), ou le rouget du porc (poule).

MM. Foa et Carbone, puis M. Emmerich et M. Fawitzky guérissaient la pneumococco-septicémie chez les lapins et les souris par des injections de sérum et d'humeurs d'animaux vaccinés contre le pneumocoque.

Ces auteurs ont attribué la guérison à la propriété bactéricide des humeurs de l'organisme vacciné.

M. Krouse et M. Pansini arrivèrent à la même conclusion.

Toutes ces recherches faites jusque-là prouvaient bien que les sérums détruisaient les microbes en dehors de l'organisme, mais ils ne démontraient pas nettement que ces mêmes sérums ne se comportaient pas autrement envers les microbes dans l'intérieur de l'organisme.

Cette démonstration a été apportée par M. Pfeiffer. Il a observé un phénomène qui aujourd'hui porte son nom. Après avoir injecté dans le péritoine de cobayes hypervaccinés des vibrions cholériques vivants, il a trouvé dans le liquide péritonéal, extrait peu de temps après (10 à 20 minutes), très peu de leucocytes et une quantité de vibrions, devenus immobiles et transformés en petits globules sphériques.

Le même phénomène se produit, si l'injection est faite dans le péritoine d'un animal neuf, à condition que l'on injecte simultanément une certaine dose de sérum anticholérique. M. Pfeiffer avait vu que le sérum anticholé-

rique, chauffé à 60 ou 70°, et dépouillé ainsi de tout pouvoir bactéricide, était cependant encore capable de provoquer le phénomène ; mais d'après lui, il fallait toujours, pour que le phénomène pût se produire, le concours de l'organisme.

Ce phénomène a été observé bientôt après par MM. Dunbar, Metchnikoff, Max Gruber, Bordet, etc.

M. Metchnikoff a reproduit *in vitro* le phénomène de Pfeiffer. Il a constaté qu'il n'était nullement besoin d'un animal neuf pour mettre en évidence cette transformation du vibrion cholérique en granule ; on peut l'observer dans un tube à essai, pourvu que l'on ait soin d'ajouter au sérum anticholérique un peu d'exsudat péritonéal, riche en leucocytes.

M. Bordet a constaté qu'on peut reproduire ce phénomène en ajoutant au sérum préventif du sang défibriné de cobaye neuf. Il a démontré ensuite qu'on peut remplacer le sang défibriné par du sérum neuf, pourvu qu'il soit bien frais.

MM. Fraenkel et Sobernhein ont observé que des deux pouvoirs du choléra-sérum, l'un, le pouvoir bactéricide, est détruit par le chauffage à 60°, l'autre, préventif, résiste à un chauffage à 70°.

MM. Pfeiffer et Dunbar ont constaté que les propriétés bactéricides du sérum étaient spécifiques, c'est-à-dire qu'elles étaient toujours plus marquées pour les microbes identiques à celui dont on se servit pour vacciner l'animal.

M. Bordet a confirmé les constatations de Fraenkel et Sobernhein, Pfeiffer et Dunbar, et démontré que c'est la matière préventive seule qui est spécifique.

M. Bordet a étudié au fond ce phénomène et a démontré

clairement la part qui revient à la substance préventive dans la destruction des microbes.

« Le pouvoir bactéricide du choléra-sérum (ou d'autres sérums similaires), dit M. Bordet, est dû à l'existence, dans ce sérum, de deux substances bien distinctes : la première, qu'on peut appeler substance préventive ou anticorps (nous l'appelons maintenant sensibilisatrice), est spéciale à l'immunsérum et la caractérise ; *elle est spécifique* ; elle résiste à l'action d'une température de 55-60° ou même davantage. L'autre, qu'on peut appeler substance bactéricide proprement dite ou alexine, existe aussi bien dans le sérum neuf que dans le sérum de vaccinés ; elle se détruit à 55°. Il faut que le pouvoir bactéricide se manifeste énergiquement et avec spécificité, que ces deux substances soient toutes deux présentes dans le sérum... » La matière préventive (sensibilisatrice) n'est nullement bactéricide. Quant au sérum neuf, il possède par lui-même, grâce à l'alexine qu'il contient, une certaine activité bactéricide assez légère en général, qui n'est pas spécifique et se manifeste sur des microbes divers, surtout sur les microbe atténués. Mais, en présence de la matière préventive d'un immunsérum déterminé, l'alexine attaque spécifiquement, avec une extrême énergie, la race déterminée de microbes vis-à-vis de laquelle l'immunsérum est actif.

Cette sensibilisatrice, mise en contact de microbes correspondants, se porte sur eux, les prépare, les sensibilise à l'action de l'alexine dont elle exagère ainsi considérablement l'action nocive à l'égard de ces éléments.

Décelée dans le sérum de presque tous les organismes immunisés, et supposée spéciale au sérum des vaccinés, la sensibilisatrice aurait été aujourd'hui retrouvée, grâce aux travaux de MM. Pfeiffer, Bordet, Wechsberg, Malvoz, etc., dans le sérum de plusieurs animaux neufs.

Les Alexines

Synonymes . . { Complément ou addiment (Ehrlich)
Cytase (Metchnikoff)
Alexine (Büchner)

Découverte par M. Nuttall, étudiée par M. Büchner, l'alexine est considérée par M. Metchnikoff comme un ferment digestif intra-cellulaire.

Cette alexine, qui prend la part principale dans la destruction et la digestion des éléments englobés par les phagocytes, en fait autant quand elle se trouve en dehors des leucocytes dans les humeurs. Elle attaque tous les éléments étrangers (globules, microbes) et respecte ses éléments cellulaires tant qu'ils ne sont pas mortifiés. Son action destructive est considérablement accrue quand elle se trouve en présence de la sensibilisatrice spécifique pour les éléments qu'elle attaque.

Elle est détruite à la température de 55°.

MM. Büchner, Metchnikoff et ses élèves, Denis, Schattenfroll, Bail, Löwit, Bordet, Gengou, Klein, Shibayama, etc, admettent les leucocytes comme source de production des alexines. On est à peu près d'accord en ce que les alexines provenant d'animaux d'espèces différentes, ne sont pas complètement identiques. Mais dans le même sérum existe-t-il une seule alexine ? Pour MM. Büchner et Bordet, il n'existe qu'une seule alexine dans le même sérum.

M. Metchnikoff et ses élèves admettent l'existence de deux alexines différentes : l'une bactériolytique (microcytase), l'autre hémolytique (macrocytase).

MM. Ehrlich et Morgenroth, Neisser et Wechsberg sont des partisans de la théorie pluraliste.

CHAPITRE II

PROPRIÉTÉS HÉMOLYTIQUES DES SÉRUMS

La découverte de cette propriété du sérum est assez ancienne.

A l'époque où l'on essayait la transfusion à l'homme du sang ou du sérum des divers mammifères, on s'est aperçu du danger de cette intervention, à cause de l'action dissolvante de ces humeurs sur les globules du sang humain. Les praticiens avaient signalé des accidents très graves, souvent mortels.

Les pathologistes, notamment Panum, Pondick, Hayem, Landois, établirent comme cause de ces phénomènes la dissolution des hématies et des leucocytes d'homme par le sang d'espèces étrangères.

Creite et Landois observèrent ce phénomène pour la première fois *in vitro*.

Mais ce n'est que grâce aux recherches de MM. Daremberg et Büchner que nous avons des connaissances plus ou moins précises sur le pouvoir globulicide du sérum sanguin. Ces auteurs ont montré qu'un sérum donné possède, parfois très nettement, la propriété de détruire les hématies appartenant à un animal d'espèce différente ; il en fait diffuser l'hémoglobine et les rend transparentes ;

l'action du sérum de lapin sur les globules de cobaye fournit un bon exemple de ce phénomène.

Ils ont observé, en outre, que l'action d'une température de 55° détruit ce pouvoir globulicide, en même temps qu'elle abolit le pouvoir bactéricide du sérum.

M. Büchner attribua ce pouvoir globulicide à l'action des alexines sur les hématies.

M. Bordet a remarqué que le sérum d'un animal agglomère les globules rouges provenant d'un animal d'espèce différente ; c'est ainsi que le sérum de poule agglomère les globules de rat et de lapin.

Il a trouvé que ces deux phénomènes d'agglomération et de destruction des globules sous l'influence d'un sérum d'espèce différente, sont provoqués par deux substances nettement distinctes. Tandis que la substance destructive se détruit à 55°, comme l'avaient déjà montré MM. Büchner et Daremberg, la substance agglomérante résiste parfaitement à cette température.

Ces deux pouvoirs qui se trouvent dans le sérum des animaux neufs, sont exaltés, comme l'ont démontré MM. Belfanti et M. Carbone, puis Bordet, si on injecte à plusieurs reprises à des animaux neufs du sang défibriné provenant d'une espèce différente.

Belfanti et Carbone, en 1898, ont observé pour la première fois, que le sérum d'un cheval, auquel on avait injecté dans le péritoine une forte quantité de sang de lapin, est devenu très toxique pour ce rongeur. Le sérum de chien, traité avec du sang de lapin, acquiert pour cette espèce un pouvoir toxique encore plus prononcé. Ils ont établi que ces sérums ne deviennent très toxiques que pour les espèces qui avaient fourni le sang à injecter.

Presque en même temps et indépendamment de ces auteurs, M. Bordet a fait des observations analogues. Il a

trouvé que le sérum des cobayes vaccinés contre le sang défibriné de lapin, manifeste énergiquement ces pouvoirs envers les globules de lapins. Ce sérum actif de cobaye chauffé, soit à 55°, soit à 60°, pendant une demi-heure, perd la propriété de détruire les globules de lapin, mais il reste puissamment agglomérant. Si à un mélange de sang défibriné de lapin et du même sérum de cobaye vacciné préalablement chauffé à 55°, on ajoute une certaine quantité de sérum de cobaye normal, ou de lapin neuf, on fait apparaître au sein du mélange, dans leur intégralité, les phénomènes de destruction. Le mélange devient rouge et limpide au bout de quelques minutes.

L'hémo-sérum contient donc deux substances : l'une est détruite par un chauffage à 55°, l'autre résiste à cette température et n'est pas par elle-même globulicide, mais le devient quand on la met en contact avec un sérum frais d'un animal quelconque. Si on injecte à un animal neuf le sérum spécifique chauffé à 55°, le sérum de cet animal acquiert le pouvoir globulicide intense qu'il ne possédait pas avant.

La substance spéciale, propre aux sérums spécifiques, résistante à la température de 56°, a donc besoin, pour produire l'effet bactéricide intense, du concours d'une autre substance thermolabile qui se retrouve dans le sérum des animaux neufs et qui n'est autre que l'alexine de M. Büchner. Peu active dans le sérum neuf, cette alexine agit énergiquement dans le sérum des animaux traités, parce qu'elle se trouve alors mélangée avec la substance spéciale qui caractérise le sérum spécifique et qui favorise l'action de l'alexine.

Il faut donc, pour qu'un sérum détruise activement les hématies, qu'il contienne à la fois ces deux substances.

MM. Ehrlich et Morgenroth ont confirmé les faits cons-

tatés par M. Bordet et ont démontré en plus que les substances actives des sérums antihématiques se fixent sur les globules correspondants si solidement qu'on ne peut pas s'en débarrasser, même si on soumet ces globules à des lavages répétés.

Von Dungern, Landsteiner, Nolf, Metchnikoff, etc., ont pu constater chez d'autres espèces animales l'exactitude de ces observations.

« De tels faits semblent prouver nettement, dit M. Bordet, que cette substance particulière résistante à la chaleur propre au sérum des vaccinés, et qui permet l'action énergique de l'alexine dissolvante, porte son action sur les globules eux-mêmes, pour les impressionner directement et les *sensibiliser* à l'action de l'alexine. » Il donne à cette substance le nom de « *sensibilisatrice* ».

Tout se passe donc ici comme dans le phénomène de destruction des microbes par les sérums spécifiques appropriés. Ici comme là, pour la destruction active, l'intervention combinée de la sensibilisatrice spécifique et de l'alexine semble nécessaire.

Tandis que M. Metchnikoff et ses élèves admettent l'existence de deux alexines différentes dans le même sérum : une alexine bactériolytique (microcytase), l'autre hémolytique (macrocytase), M. Büchner émet l'idée (et M. Bordet l'a confirmée par la démonstration expérimentale) que la substance (alexine) qui détruit les microbes est identique à celle qui produit l'hémolyse.

CHAPITRE III

POUVOIRS ANTIHÉMOLYTIQUE ET ANTIBACTÉRIOLYTIQUE DES SÉRUMS

Sous ce nom, nous désignons les propriétés qui se manifestent dans les sérums neufs ou dans les immunsérums, par l'empêchement de la destruction des globules rouges ou des microbes, préalablement sensibilisés et au contact de l'alexine libre.

Nos connaissances sur ce phénomène sont encore aujourd'hui bien restreintes et se bornent à quelques rares observations, signalées par les expérimentateurs.

M. Besredka a observé un empêchement de l'hémolyse par les sérums normaux de lapin, mouton, cheval, chien, cobaye et de l'homme.

Il a cru démontrer que cette antihémolysine était une antisensibilisatrice. L'empêchement de l'hémolyse consisterait donc en une neutralisation de la sensibilisatrice fixée sur les globules. Les globules, débarrassés ainsi de la substance qui les prédispose à l'action destructive de l'alexine libre, ne seraient plus attaqués par cette dernière substance.

Etait-ce vraiment l'antisensibilisatrice la substance qui a empêché l'hémolyse ? Nous ne pouvons pas le discuter ici sans trop compliquer le sujet de notre thèse ; remar-

quons seulement que si l'on avait appliqué aux résultats obtenus par M. Besredka la façon de voir que nous développons dans l'autre partie de cet ouvrage, l'on serait arrivé à des conclusions toutes différentes.

MM. Neisser et Wechsberg ont constaté que lorsque la dose d'alexine est assez faible, une quantité trop forte d'immunisation spécifique (chauffée au préalable à 55°) exerce une influence empêchant la bactériolyse.

D'après ces auteurs, lorsqu'on a mélangé à des microbes une forte proportion de sensibilisatrice, l'alexine ne peut être utilisée dans sa totalité à la destruction des microbes. En effet, la sensibilisatrice trop abondante ne peut être absorbée entièrement par les microbes ; l'excès persiste dans le liquide et, en raison de son affinité pour l'alexine, s'empare d'une portion plus ou moins importante de cette matière active qui, en conséquence, ne peut concourir à la bactériolyse.

Le rôle empêchant qu'exerce une dose trop abondante d'immunsérum est expliqué ainsi par une véritable *déviation de l'alexine* (komplementablenkung), par l'excès de sensibilisatrice non combinée avec le microbe.

MM. Rodet et Lagriffoul ont observé le phénomène de Neisser et Wechsberg pour le sérum antityphique, mais ils n'admettent pas l'interprétation de ces auteurs.

« Nous ne pensons pas, disent-ils, que tous ces faits s'expliquent par l'hypothèse d'une substance unique, fixateur ou sensibilisatrice, susceptible de déterminer des effets contraires suivant sa dose, et de conférer au sérum des propriétés différentes, suivant qu'il en est plus ou moins riche. » Ils supposent qu'il se forme, à côté de la sensibilisatrice, une ou plusieurs substances antibactéricides ou antialexiques, susceptibles de masquer les effets de

cette dernière, d'autant plus qu'elles prédominent davantage dans le sérum.

Ils admettent aussi la possibilité d'existence de deux fixateurs de qualités diverses (bons et mauvais). Tous les deux fixeraient l'alexine sur le microbe correspondant, mais tandis que l'effet de l'action combinée de « *bon fixateur + alexine* » serait bactéricide, au contraire, celui de « *mauvais fixateur + alexine* » serait anti-bactéricide.

M. Frédérick-P. Gay a confirmé le fait de « *la déviation du complément* » pour ce qui concerne l'hémolyse. Mais il comprend cette déviation tout autrement que ne le font MM. Neisser et Wechsberg. Il attribue cette déviation à un précipité qui se formerait aux dépens du sérum appartenant à l'animal qui a fourni les globules, par la précipitine apportée avec l'immunsérum. Et il trouve « qu'on ne pourrait pas constater le phénomène de Neisser et Wechsberg dans l'hémolyse, si l'on employait des globules absolument débarrassés, par un lavage soigneux, du sérum qui les baignait dans le sang défibriné originel ».

Sachs a démontré qu'un sérum normal (lapin) *acquiert*, par le contact avec des globules étrangers (mouton) la propriété d'empêcher l'hémolyse de ces mêmes globules par un sérum spécifique (lapin, mouton).

Pfeiffer et Friedberger ont observé qu'un sérum normal acquiert, par le contact avec un microbe, la propriété de neutraliser le pouvoir « bactériolytique » *in vitro* (en réalité préventif) du sérum spécifique correspondant.

Bail et Kikuchi ont confirmé que le sérum ainsi traité empêche la bactériolyse *in vitro* du même microbe.

MM. Ehrlich, Müller, Noguchi, Rehns, se sont occupés de la question.

CHAPITRE IV

LES ANTICORPS DES IMMUNSÉRUMS

Les propriétés bactériolytiques et hémolytiques que nous venons d'exposer ne sont que des manifestations particulières d'une propriété plus générale des sérums des vaccinés : *la propriété cytolytique*. En effet, les microbes et les globules rouges ne sont pas les seuls éléments dont l'injection provoque l'apparition dans le sérum des animaux traités, des substances actives et spécifiques, connues sous le nom générique d' « anticorps » ; n'importe quels éléments figurés sont capables, une fois introduits dans l'organisme, d'amener l'apparition dans son sérum des anticorps correspondants. A chaque élément cellulaire correspondent donc ces anticorps. Mais ce n'est pas encore tout. Il existe une propriété des sérums encore plus générale que la précédente, pour laquelle on n'a pas jusqu'ici trouvé de nom, et qui englobe toutes les propriétés des immunsérums précédemment cités. C'est la propriété de neutraliser ou modifier d'une manière quelconque toutes les substances qui ont servi pour l'injection.

C'est ainsi qu'on peut trouver dans un sérum donné des anticorps, non seulement pour les éléments figurés, mais aussi pour une substance chimique, si cette dernière a été injectée à l'animal qui a fourni le sérum. Comme cette pro-

priété des immunsérums est due à la présence dans leur sein des anticorps spéciaux, l'étude de cette propriété se confond avec celle des anticorps.

Les anticorps sont des substances le plus souvent spécifiques, généralement thermostabiles, qui apparaissent dans le sérum d'un organisme à la suite d'une série d'injections des éléments figurés, soit morts, soit vivants, et des substances chimiques, organiques, nuisibles ou indifférentes, et qui sont destinées à les immobiliser, à les dissoudre, et, d'une manière générale, à les modifier d'une façon à les faire disparaître de l'organisme.

Nous empruntons à M. Nicoll sa classification des anticorps, qui est toute nouvelle et constitue une vue spéciale et personnelle à cet auteur.

Anticorps artificiels

Les anticorps des cellules animales, végétales ou microbiennes	Cytocoagulines — agglutinines. Cytolysines — sensibilisatrices.
Les anticorps des matières albuminoïdes, animales, végétales ou microbiennes	Albuminocoagulines — précipitines. Albuminolysines.
Les anticorps de toxines solubles animales, végétales ou microbiennes.	Toxinocoagulines — antitoxines. Toxynolysines.

Nous n'examinerons ici que les sensibilisatrices, les autres n'entrant point dans le sujet de notre travail.

a. *Les Sensibilisatrices*

Synonymes . . . Anticorps (Pfeiffer).
Amboreceptor, Immunkörper, Zwischenkorper (Ehrlich et Morgenroth).
Fixateur, philacytase (Metchnikoff).
Sensibilisatrice (Bordet).
Immunisine (Büchner).
Préparateur (Gruber).
Desmon (London).

Connue depuis longtemps sous le nom de substance préventive, la sensibilisatrice a été étudiée par MM. Pfeiffer, Fraenkel et Sobernheim, Belfanti et Carbone, Ehrlich et Morgenroth, etc., mais c'est surtout à M. Bordet que nous devons nos connaissances sur cette substance. La sensibilisatrice est un anticorps engendré par des cellules de l'organisme à la suite d'une série d'injections des éléments étrangers, et caractérisée par la propriété de se fixer sur ses éléments et de les préparer à l'action de l'alexine ; c'est la sensibilisatrice spécifique et artificielle pour ainsi dire, propre au sérum des vaccinés. Mais aujourd'hui, grâce à la méthode de réaction de fixation de Bordet, on prétend trouver dans le sérum des animaux neufs les sensibilisatrices dites naturelles.

C'est ainsi que M. Pfeiffer a signalé la présence d'une sensibilisatrice pour le vibrion cholérique dans le sérum normal de chèvre.

M. Wechsberg a remarqué que le sérum neuf chauffé de lapin, doit renfermer une sensibilisatrice pour le bacille typhique. M. Malvoz aurait trouvé une sensibilisatrice pour le bacille du charbon dans le sérum normal du chien.

Retrouvé au début dans quelques-uns des sérums des vaccinés et pour quelques éléments figurés seulement (globules, microbes), cet anticorps artificiel serait décélé maintenant, grâce à la méthode de M. Bordet, dans presque tous les immunsérums et pour n'importe quel élément contre lesquels on immunise l'animal.

MM. Bordet et Gengou ont cru démontrer l'existence d'une sensibilisatrice dans le sérum de chevaux vaccinés contre le rouget du porc, et le bacille pesteux dans le sérum de cobaye vacciné contre le premier vaccin charbonneux, le *proteus vulgaris*, le bacille typhique, etc.

M. Besredka en aurait déterminé la présence dans les sérums des chevaux immunisés contre le streptocoque et le bacille de Loeffler ; MM. Vidal et Le Sourd, dans les sérums des typhiques ; M. Dopter dans le sérum de malades atteints de la dysenterie.

M. Defalle obtient une sensibilisatrice des spores microbiens. M. Gengou obtient des sensibilisatrices pour les éléments non organisés (sérum, caséine, lactoglobuline, etc.).

Plusieurs expérimentateurs ont obtenu la sensibilisatrice pour les globules rouges de différents animaux et de l'homme.

M. Landsteiner découvre de la spermotoxine (1) dans le sérum de lapins soumis à des injections de spermatozoïdes de taureau.

M. Dungern a publié la description d'une toxine artificielle qui immobilise les cils vibratiles de l'épithélium de

---

(1) Sous le nom de cytotoxine M. Metchnikoff propose de désigner les poisons des éléments figurés, poisons d'origine animale d'où l'hémotoxine, spermotoxine, etc., qui correspondent à autant de sensibilisatrices).

la trachée du bœuf, toxine obtenue par un procédé analogue.

M. Metchnikoff a obtenu une leucotoxine ;

M. Lindemann, une néphrotoxine ;

M. Delezenne, puis M. Schmidt (de Moscou), une névrotoxine ;

MM. Delezenne et Deutsch, une hépatoxine ;

MM. Theohari et Babes, Lion et Français, une gastrotoxine ;

M. Bélenovsky, une entéro-toxine ;

MM. Beauvy et Chirié trouvent un anticorps placentaire dans le sang du fœtus ;

MM. Wassermann et Plant, Neisser, Bruck et Schucht, Marie et Levaditi, auraient trouvé une sensibilisatrice syphilitique, soit dans les extraits des organes et dans le sang des syphilitiques, soit dans les liquides céphalo-rachidiens des paralytiques généraux et des tabétiques.

b. *Propriétés des sensibilisatrices*

Ces substances résistent au chauffage à 60°-70° et même davantage. Elles s'altèrent avec le temps. Elles sont spécifiques, c'est-à-dire que leur action se manifeste presque exclusivement pour l'élément identique à celui dont on s'est servi pour vacciner l'organisme dont le sérum provient. Elles ne sont, par elles-mêmes, ni bactériolytiques, ni cytolytiques, mais elles jouissent d'une propriété remarquable de préparer ces éléments à l'action de l'alexine. Elles possèdent de plus la propriété de favoriser l'action des phagocytes.

c. *Mécanisme de l'action de la sensibilisatrice*

D'après M. Bordet, il n'y a pas de combinaison définie entre la sensibilisatrice et les éléments figurés qu'elle prépare pour l'action de l'alexine. L'action de la sensibilisatrice sur ces éléments serait comparable à l'action de certains agents fixateurs ou mordançants, qui confèrent à certaines substances la propriété d'absorber des couleurs qu'elles refusaient auparavant. Il n'admet pas non plus la combinaison entre la sensibilisatrice et l'alexine libre. Il rejette ainsi l'idée de neutralisation et de combinaisons chimiques dans le mécanisme de l'action combinée de la sensibilisatrice et de l'alexine dans le phénomène de cytolyse.

MM. Ehrlich et Morgenroth, fondateurs de la théorie des chaînes latérales, sont, au contraire les partisans de la neutralisation chimique. Ils admettent que la sensibilisatrice s'unit directement par un pôle (haptophore complémentophile), avec le groupe haptophore de l'alexine ; une fois cette complexe « sensibilisatrice-alexine » formée, l'autre pôle (haptophore cytophile) de la sensibilisatrice se porte sur le récepteur de l'élément correspondant, qui subit l'action destructive de la partie libre (zymotoxe) de l'alexine. Ces diverses combinaisons d'ordre chimique se feraient, d'après ces auteurs, suivant des proportions bien définies.

d. *Origines des anticorps*

A la question : d'où viennent les anticorps artificiels, agents déterminants de l'immunité ? M. Nicolle répond : « De la même source, évidemment, que les anticorps nor-

maux. Mais, ici, la production devient exubérante et se double de l'apparition d'une électivité bien comme vis-à-vis de l'antigène correspondant. »

Mais, d'où vient cette spécificité et la multiplicité des anticorps ?

« L'augmentation numérique peut être conçue sans peine, dit M. Nicolle, tandis que nous ne saurions nous faire actuellement qu'une représentation très grossière de la spécificité... La formation d'anticorps naturels différenciés, constitue un procès des plus obscurs, et la multiplicité de ces anticorps détourne l'esprit. Chacun pense et répète volontiers qu'il doit y avoir là-dessous quelque chose, mais quoi ? »

Ces quelques lignes, écrites en 1908, caractérisent en quelque sorte l'état actuel de la question.

Voyons maintenant les opinions des divers savants, opinions appuyées par des expériences.

On a pensé, au début, que le lieu de production des antitoxines serait les organes qui sont particulièrement atteints par des toxines correspondantes. (Ehrlich.)

C'est ainsi que MM. Wassermann et Takaki ont cru que les cellules du cerveau sont le lieu de formation des antitoxines solubles tétaniques.

Mais cette hypothèse a été démontrée inexacte par les travaux de MM. Metchnikoff et d'autres. MM. Pfeiffer et Marx ont démontré que les lieux de formation des anticorps cholériques sont les organes lymphoïdes, la moelle osseuse, les ganglions, la rate.

M. Deutsch considère comme lieu de formation des anticorps typhiques les mêmes organes et, en plus, le sang même.

MM. Kraus et Schiffmann, les mêmes organes pour les

anticorps bactéricides, le système vasculaire pour les précipitines et les agglutinines.

Pour M. Wassermann, ce serait le thymus, la rate et surtout la moelle osseuse qui produiraient des anticorps typhiques.

M. Metchnikoff et ses élèves considèrent les leucocytes comme source principale, sinon exclusive, des anticorps.

La théorie d'Ehrlich, relative à l'origine des anticorps, consiste en ceci : quand on injecte à un animal une substance dont l'inoculation est susceptible de déterminer la production d'un anticorps, cette substance se soude à certains éléments chimiques (récepteurs) appartenant à des cellules déterminées. Celles-ci, troublées, réagissent. Pour rétablir l'intégrité de leur constitution, elles élaborent de nouveaux récepteurs, lesquels, reproduits en abondance exagérée (la réaction étant trop intense), quittent la cellule et se déversent dans les humeurs, où ils constituent l'anticorps caractérisant le sérum obtenu.

c. *Les opsonines*

Les opsonines trouvent leur place la plus naturelle à côté des sensibilisatrices, parce que les propriétés opsoniques des sérums ne sont considérées par quelques auteurs que comme des manifestations des sensibilisatrices fixées sur les microbes et d'autres éléments cellulaires.

MM. Wright et Douglas ont constaté en 1904 que le sérum normal contenait des substances qui, en se fixant sur le microbe pathogène, le rendait prêt à se laisser englober par les phagocytes.

Ils ont démontré ainsi que le sérum normal humain exerçait une influence stimulante sur la phagocytose du

bacille de la peste, du *micrococcus melitensis*, du bactérium-coli, du bacille de la dysenterie, du bacille charbonneux, etc. Ils ont donné à ces substances le nom d' « opsonines ».

MM. Hektoen et Ruediger confirmèrent ces faits pour le streptocoque.

MM. Bulloch et Atkin ont fait des observations analogues. Ce phénomène a été étudié par MM. Löhlein et Sleerwijk. Ce dernier a trouvé l'opsonine pour les bactéridies charbonneuses dans le sérum de grenouille.

MM. Wright et Douglas trouvent que les opsonines sont détruites par chauffage à 60° pendant 10 minutes.

En outre de ces opsonines dites normales, on connaît aujourd'hui des opsonines artificielles et spécifiques des immunsérums.

MM. Denis et Leclef, Iwatchenko, Inmann, Levaditi, Wadoux, sont ceux qui ont étudié le pouvoir opsonisant des sérums neufs et des immunsérums.

MM. Ruediger, Rosenow et Hektoen, ont trouvé que le pouvoir opsonique du sang a été augmenté chez les infectés et les convalescents.

M. Wright a créé une méthode pour mesurer le pouvoir opsonique. Cette méthode a permis à la théorie des opsonines des applications pratiques. C'est ainsi que M. Wright appliquant cette méthode n'a fait aux malades (tuberculeux) des injections de tuberculine qu'au moment où leurs opsonines étaient en hausse et a obtenu de cette façon des résultats très remarquables.

Pour M. Wright, les opsonines des vaccinés et celles des animaux neufs, seraient identiques ; la différence ne serait que quantitative. Pour d'autres, la nature des opsonines des vaccinés serait toute autre que celle des opsonines naturelles.

CHAPITRE V

LA RÉACTION DE FIXATION DE BORDET

Nous avons déjà vu qu'on peut mettre en évidence la présence d'une sensibilisatrice dans un sérum donné par des transformations granuleuses et la bactériolyse que les microbes correspondants subissent sous l'influence de l'action combinée de la sensibilisatrice et de l'alexine.

Par conséquent, cette métamorphose des microbes est une condition nécessaire pour déceler la présence de la sensibilisatrice par cette méthode. Or, la plupart des microbes, non seulement ne sont pas détruits, mais ils ne se laissent pas même visiblement altérer au contact de sérums d'animaux même fortement immunisés. Il fallait donc suivre d'autres méthodes pour les recherches de cet ordre.

Partant de ce principe que les microbes sensibilisés absorbent avidement l'alexine et la font disparaître du milieu ambiant, M. Bordet a imaginé une méthode à l'aide de laquelle on a cru déceler la présence de la sensibilisatrice presque dans tous les sérums des vaccinés et des infectés ainsi que dans le sérum de plusieurs animaux neufs.

Nous empruntons à MM. Bordet et Gengou la description de cette méthode, donnée à propos de leur expérience sur le sérum du cheval vacciné contre le bacille de la peste :

« On chauffe ce sérum à 56° pendant une demi-heure, en même temps que du sérum de cheval neuf ; ce chauffage rend l'alexine inactive. Une culture sur gélose de bacille pesteux âgée de 24 heures est délayée dans une quantité assez faible de la solution physiologique de Nacl ; on obtient ainsi une émulsion bien trouble, riche en microbes. On dispose, en outre, de sérum bien débarrassé des globules par la centrifugation, et provenant d'un cobaye neuf, qui a été saigné la veille. C'est le sérum alexique. On prépare dans des tubes à réactifs, les six mélanges suivants :

» *a*. Ce tube contient 2/10 de cc. de sérum alexique ; 4/10 de cc. d'émulsion de bacilles pesteux ; 12/10 de cc. de sérum antipesteux (préalablement chauffé à 56°).

» *b*. Comme le précédent, ce mélange renferme 2/10 de cc. de sérum alexique et 4/10 de cc. d'émulsion de bacilles. Mais il contient, au lieu de sérum antipesteux de cheval, 12/10 de cc. de sérum de cheval neuf (préalablement chauffé à 56°).

» *c*. Ce mélange est identique à *a*, sauf qu'il ne renferme pas d'émulsion pesteuse. Il se compose donc de 2/10 de cc. du sérum alexique, et de 12/10 de cc. de sérum antipesteux.

» *d*. Identique à *b*, sauf qu'il ne renferme pas d'émulsion de bacilles. Il se compose donc de 2/10 de cc. de sérum alexique, et de 12/10 de cc. de sérum de cheval neuf.

» Ces quatre premiers mélanges renferment tous, on le voit, la même dose d'alexine (sérum de cobaye neuf).

» *e*. Contient 1/10 de cc. d'émulsion pesteuse, 12/10 de cc. de sérum antipesteux.

» *f*. Contient 1/10 de cc. d'émulsion pesteuse, 12/10 de cc. de sérum de cheval neuf.

» Ces deux derniers tubes sont respectivement semblables à *a* et *b*, sauf qu'ils ne contiennent pas d'alexine.

» On attend cinq heures environ, pendant lesquelles les mélanges restent à la température du laboratoire (15-20°). On introduit ensuite dans les divers tubes, au même moment, 2/10 de cc. d'un mélange ainsi composé :

» 2 cc. de sérum (préalablement chauffé pendant une demi-heure à 55°5) provenant d'un cobaye traité antérieurement par 3 ou 4 injections de 4-5 cc. de sang défibriné de lapin, 20 gouttes de sang défibriné de lapin (prélablement « lavé » à l'eau physiologique, pour le débarrasser de l'alexine qu'il contient). En d'autres termes, chaque tube reçoit deux gouttes de sang très fortement sensibilisé.

» Voici le résultat de l'expérience : L'hémolyse apparaît très vite, avec une rapidité très semblable dans les tubes *b*, *c*, *d*. Au bout de 5-10 minutes, ces mélanges ne renferment plus de globules intacts. Dans le tube *a*, qui renferme, outre le sérum alexique, les bacilles et le sérum antipesteux, l'hémolyse ne se produit pas. Les globules y restent intacts pendant des jours entiers. Ils restent intacts aussi, comme il fallait s'y attendre dans les tubes *e*, *f*, qui ne contiennent pas d'alexine. Nous voyons donc que :

» 1° Le bacille pesteux, mélangé à du sérum de cheval neuf, n'absorbe pas (ou n'absorbe que d'une manière insignifiante) l'alexine ;

» 2° Ce même bacille, en présence du sérum antipesteux de cheval vacciné, fixe l'alexine avec beaucoup d'avidité et la fait disparaître du liquide ambiant ;

» 3° Le sérum antipesteux non additionné de bacilles, laisse l'alexine parfaitement libre. En conséquence, il faut conclure que le sérum d'un cheval vacciné contre le bacille pesteux contient une sensibilisatrice qui confère à ce mi-

crobe le pouvoir de fixer l'alexine. Cette sensibilisatrice se comporte donc comme les substances correspondantes que l'on trouve dans le choléra-sérum et dans les sérums hémolytiques. »

C'est grâce à cette méthode de réaction de fixation de l'alexine par les microbes, sous l'influence de la sensibilisatrice, que les expérimentateurs auraient trouvé la sensibilisatrice, non seulement dans les sérums et humeurs des animaux vaccinés et des infectés, mais aussi dans le sérum des animaux neufs.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LES RECHERCHES D'UNE SENSIBILISATRICE DANS LE SÉRUM ANTITYPHIQUE

Nous avons commencé par des recherches de la sensibilisatrice spécifique dans les sérums antityphiques de M. Rodet (1).

Nous avons suivi pour cela la méthode de MM. Bordet-Gengou, légèrement modifiée par M. Le Sourd.

Cependant notre technique diffère en quelques points assez importants de celle de M. Bordet ; c'est ce qui explique la différence dans les résultats observés dans nos expériences.

Nous indiquerons cette différence dans la technique, en même temps que nous discuterons la différence des résultats.

---

(1) Il sera intéressant de faire connaître ici quelques-unes des propriétés de ces sérums qui nous ont servi pour la plupart de nos expériences. Ces propriétés ont été étudiées par MM. Rodet et Lagriffoul et publiées à la Société de biologie (1907), et dans la *Presse médicale* (1907).

Nous ne citons ici que les propriétés bactéricides et antibactéricides et le pouvoir préventif de ces sérums exposés par ces auteurs :

Technique

Nous allons décrire brièvement les divers éléments indispensables pour la réalisation de l'expérience, et indiquerons ensuite comment ces éléments doivent être combinés pour répondre aux questions que nous allons nous poser.

1° *Le sérum alexique.* — Les lapins et les cobayes neufs nous ont servi comme fournisseurs du sérum alexique. Le sang recueilli la veille de l'expérience, on sépare le sérum du caillot le jour même, puis on centrifuge le sérum pour le débarrasser de tout élément cellulaire.

2° *Emulsion de bacilles typhiques.* — On obtient cette émulsion en délayant dans une solution de chlorure de so-

---

Action bactéricide et antibactéricide

Action in vitro

A. — *Sérum frais muni de son alexine.* — « Le sérum de nos sujets immunisés ne possède qu'un pouvoir bactéricide du même ordre que celui d'un sujet neuf de même espèce, jamais sensiblement supérieur, quelquefois inférieur. »

B. — *Sérum inactif (vieilli ou chauffé à 55°) additionné de sérum alexique du sujet neuf.* — Les résultats varient beaucoup suivant les échantillons. Avec certains échantillons de sérum, on observe nettement un effet bactériolytique, mais ce pouvoir sensibilisateur, même dans les meilleures conditions et avec les meilleurs échantillons, n'est que très médiocre. Si on force dans le mélange la proportion de l'immunsérum, après une certaine limite, on observe le phénomène de Neisser et Wechsberg, c'est-à-dire l'empêchement de la bactériolyse.

Avec d'autres échantillons de sérum, l'action bactéricide s'observe encore mais avec des doses minimes de l'immunsérum ; une légère augmentation de doses fait apparaître l'action empêchante ou antibactéricide.

Enfin dans d'autres échantillons de sérum que MM. Rodet et Lagriffoul appellent « mauvais sérum », le pouvoir antibactéricide est plus accentué encore, tandis que le pouvoir bactéricide est nul.

dium, à 8 p. 1.000, une culture de bacilles d'Eberth sur l'agar, âgée de 24 heures. Nous prenons une anse de platine pour 5 cc. d'eau salée.

3° *Sérums antityphiques.* — Les sérums antityphiques de M. Rodet proviennent d'animaux (chevaux et moutons) ayant tous reçu une série d'injections intra-veineuses de bacille d'Eberth. Les sérums sont chauffés à la température de 56° pendant une demi-heure pour détruire l'alexine.

4° *Sérum hémolytique.* — Pour obtenir ce sérum, nous avons pratiqué à des lapins une série d'injections intrapéritonéales de 3 cc. de sang défibriné de mouton.

Le nombre d'injections nécessaires varie pour chaque lapin ; ainsi, un lapin nous a fourni un sérum très hémolytique à la suite de deux injections, tandis qu'un autre, avec trois injections, nous a donné un sérum dont le pouvoir hémolytique était presque nul.

L'action bactéricide in vitro

Le sérum peut, suivant les cas, soit simplement hâter la destruction des bacilles dans l'intimité des organes, soit déterminer, en deux phases successives, d'abord une accentuation de cette destruction, puis une conservation et même une pullulation des bacilles.

Il y a là, dans l'influence que le sérum est capable d'exercer sur les bacilles dans l'intimité de l'organisme, des effets qui présentent une évidente analogie avec les effets bactéricides ou antibactéricides observés *in vitro*.

Pouvoir préventif

«...Notre sérum antityphique est préventif à l'égard de l'infection éberthienne généralisée à forme septicémique (déterminée par injection intraveineuse de bacilles vivants) par une propriété antitoxique, indépendante de toute action sur les bacilles eux-mêmes, cette action antitoxique étant, suivant les cas, aidée dans ses effets par une action bactéricide (*bc+in vivo*) ou, au contraire plus ou moins entravée par un effet contraire (*bc—in vivo*).

Nous avons fait de deux à six injections, avec des intervalles de 5 à 6 jours entre deux injections successives. 10 à 14 jours après la dernière injection, l'animal est saigné.

Le sang recueilli très aseptiquement, on attend la séparation du sérum et du caillot, puis on centrifuge le sérum pour le débarrasser de ses éléments figurés. Ce sérum est chauffé au bain-marie à la température de 56° pendant une demi-heure pour le dépouiller de son alexine propre.

5° *Globules rouges.* — Le sang de mouton recueilli aseptiquement le jour même de l'expérience est défibriné, puis lavé trois fois de suite dans de l'eau salée à 8 p. 1.000, par centrifugation et décantage successifs pour débarrasser les globules des traces de sérum dans lequel ils baignaient.

6° *Globules sensibilisés.* — On prend une partie de globules rouges de mouton ainsi traités, et on les mélange avec deux parties de sérum hémolytique lapin-mouton, chauffé à 56°.

Après une heure de séjour à l'étuve à 36°, les globules sont lavés trois fois dans de l'eau salée à 8 p. 1.000 par centrifugation et décantage successifs. On débarrasse ainsi complètement les globules du sérum, la sensibilisatrice seule reste fixée sur les globules. On délaye ces globules sensibilisés dans de l'eau physiologique et on prépare une émulsion voulue. Nous amenons les globules au volume primitif du sang.

Ces divers éléments étant donnés, la première question que nous nous posons est celle-ci : le sérum antityphique contient-il une sensibilisatrice pour le bacille d'Eberth ?

1. — Pour cela, nous préparons quatre mélanges : *a, b, c* et *d*. Ces mélanges sont composés ainsi :

Le tube *a* contient 28 gouttes d'eau salée à 8 p. 1000.
— *b* — 10 gouttes d'une émulsion de bacilles d'Eberth.
— — — 18 gouttes d'eau salée à 8 p. 1000.
— *c* — 10 gouttes d'une émulsion de bacilles d'Eberth.
— — — 18 gouttes de sérum antityphique (1).
— *d* — 10 gouttes d'émulsion de bacilles d'Eberth.
— — — 18 gouttes de sérum de mouton neuf chauffé à 56 degrés.

2. — Ceci fait, nous laissons les éléments de ces mélanges en contact pendant une heure à la température de la salle, pour permettre à la sensibilisatrice, si elle existe dans le sérum choisi, de se fixer complètement sur les bacilles ; c'est le deuxième temps de notre expérience.

3. — Après ce temps, nous additionnons chaque tube de 4 gouttes de sérum frais (cobaye), alexique, et nous laissons ces mélanges à l'étuve à 36° pendant 2 heures.

Pendant ce troisième temps de l'expérience, l'alexine se fixe sur les bacilles sensibilisés et disparaît ainsi du milieu ambiant. Au contraire, l'alexine restera libre s'il n'y a pas de sensibilisatrice.

4. — Après ce troisième temps, chaque tube reçoit 4 gouttes de globules sensibilisés.

Ces globules, fortement sensibilisés par un sérum hémo-

---

(1) Ce sérum provient d'un mouton, marqué d'un numéro 3, immunisé contre le bacille d'Eberth et saigné le mois de juillet 1907. Nous le désignerons : *mouton-3-juillet*.

lytique correspondant, sont tout prêts à se laisser détruire par l'alexine.

Dans les tubes où il y a des bacilles sensibilisés, l'alexine etant fixée, les globules ne subiront aucune altération.

Si la sensibilisatrice fait défaut, il n'y aura aucune fixation d'alexine par les bacilles et les globules sensibilisés se détruiront rapidement au contact de l'alexine restée libre dans le mélange.

Comme l'hémolyse se produit mieux à la température de 36°, nous laissons les mélanges à l'étuve jusqu'à ce que l'hémolyse soit complète dans le tube témoin qui ne contient que l'alexine seule, c'est-à-dire dans le tube *a*.

Les résultats sont résumés dans le tableau qui suit (1) :

Tableau 1

Le quatrième temps de l'expérience est accompli à 3 heures

TUBES	SERUMS EN GOUTTES		ALEXINE 1/2 cobaye en gouttes	EMULSION de bacilles d'Eberth en gouttes	EAU SALEE 8 p. 1000 en gouttes	GLOBULES sensibilisés en gouttes	OBSERVATIONS à 4 h.	à 5 h.	24 h. après
a	—	—	4	—	28	4	+ +	+ +	+ +
b	—	—	4	10	18	4	+ |	+ +	+ +
c	Mouton 3 juillet	18	4	10	—	4	0	0	0
d	Mouton neuf chauffé à 56°	18	4	10	—	4	+ +	+ +	+ +

(1) Nous expliquons ici une fois pour toutes les signes qui expriment les résultats : deux croix (+ +) signifient hémolyse complète ; une croix avec un trait (+ |) l'hémolyse presque complète ; une croix (+) l'hémolyse incomplète : 0 absence d'hémolyse.

Nos observations nous démontrent que dans les tubes *a, b, d,* l'hémolyse est complète au bout d'une heure ; dans le tube *c,* les globules agglutinés restent au fond du tube intacts et au bout de 24 heures, on n'observe pas même de traces d'hémolyse. Que s'est-il passé dans les tubes pendant le temps où les différents éléments des mélanges sont restés en contact ? Le tube *a* ne contient que de l'alexine et de l'eau salée ; les globules sensibilisés introduits dans ce tube se trouvent ainsi en présence de l'alexine libre qui, en se fixant sur les premiers, produit cet effet d'hémolyse complète et rapide. Le tube *b* est dans les mêmes conditions que le tube *a*, sauf qu'il contient des bacilles ; il y a une légère différence entre ces deux tubes, consistant en un léger retard d'hémolyse pour le tube *b* ; cela prouve que les bacilles seuls ont absorbé une petite quantité d'alexine.

Dans le tube *d*, on a introduit du sérum normal de mouton neuf chauffé à 56° ; ce mélange supposé dépourvu de sensibilisatrice spécifique, les bacilles ne fixeront pas l'alexine, qui, restée libre, attaquera les globules sensibilisés ; le sérum du mouton neuf étant inactif, le tube *d* se trouve donc dans les conditions du tube *b* ; les résultats sont, d'ailleurs, exactement pareils.

Le tube *c* contient le sérum d'un mouton immunisé contre le bacille d'Eberth ; par conséquent, nous le supposerons pourvu d'une sensibilisatrice pour ce bacille.

Cette sensibilisatrice se fixera sur les bacilles pendant le second temps de l'expérience ; pendant le troisième temps, les bacilles déjà sensibilisés fixeront l'alexine et la feront disparaître du mélange. Les globules sensibilisés, introduits pendant le quatrième temps, ne retrouvant plus l'alexine libre, se conserveront intacts des jours entiers :

c'est ce que démontre notre observation rapportée dans le tableau I.

Nous pouvons donc conclure, d'après cette expérience, que le sérum antityphique fourni par le mouton 3, immunisé contre le bacille d'Eberth, contient une sensibilisatrice pour ce bacille.

Cette première question étant résolue d'une manière positive, passons maintenant à une autre :

La présence des bacilles est-elle nécessaire pour la production de la réaction de fixation ; en d'autres termes, le sérum seul n'est-il pas capable d'empêcher l'hémolyse ?

Pour cela, nous allons préparer quatre tubes : *a, b, c, d,* comme dans l'expérience précédente, et en plus un tube *e,* qui contiendra le même mélange que le tube *c,* avec cette différence qu'à la place de 10 gouttes d'émulsion de bacille, il recevra 10 gouttes d'eau salée à 8 p. 1.000.

Nous nous dispensons de la description de préparation des mélanges ; nous suivons toujours la même technique ; le procédé de cette expérience comme des expériences qui vont suivre, sera donc absolument le même que pour l'expérience précédente.

Le tableau ci-dessous exprime les résultats de nos observations.

Tableau 2

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine 1/2 (cobaye) en gouttes.	Emulsion de bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 p. 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	OBSERVATIONS à 4 h.	à 5 h.	24 h. après.
a	—	—	4	—	28	4	++	++	++
b	—	—	4	10	18	4	+|	++	++
c	Mouton 3 juillet.	18	4	10	—	4	0	0	0
d	Mouton neuf chauffé à 56°.	18	4	10	—	4	+|	++	++
e	Mouton 3 juillet.	18	4	—	10	4	0	0	0

Ce tableau indique que l'hémolyse ne se produit pas dans les tubes *c* et *e*.

Rien de surprenant pour le tube *c*, qui donne le même résultat positif au point de vue de la réaction de fixation que dans l'expérience précédente ; ce n'est que le tube *c* qui nous donne un résultat inattendu.

En effet, pour le tube *c*, nous disions tout à l'heure que la sensibilisatrice du sérum se porte sur les bacilles ; les bacilles ainsi sensibilisés fixent l'alexine et les globules sensibilisés ne trouvant pas l'alexine libre restent intacts, mais le tube *e* ne contenant pas de bacilles, la même interprétation ne convient plus.

Pour expliquer cet effet commun aux deux tubes, il ne

nous reste qu'à examiner les éléments communs aux deux mélanges. Indépendamment de l'alexine qui est elle-même l'agent de l'hémolyse, ce sont l'eau sale et le sérum mouton-3-juillet.

Nous pouvons éliminer le premier élément qui, soit seul (tube *a*), soit en présence des bacilles (tube *b*), n'est pas capable d'empêcher du tout l'hémolyse ; il se trouve dans tous les tubes où l'hémolyse est le plus complète.

Il ne nous reste donc à considérer que le deuxième élément : le sérum mouton-3-juillet. En effet, dans les deux tubes qui en contiennent, l'hémolyse est nulle. Donc, c'est bien le sérum même qui est la cause de l'empêchement de l'hémolyse.

Cette dernière expérience nous autorise à conclure que le sérum de mouton-3-juillet n'a pas besoin de concours de bacilles pour empêcher complètement l'hémolyse, et que ce sérum contient des substances antihémolytiques.

CHAPITRE II

EXISTENCE D'UNE SUBSTANCE ANTIHÉMOLYTIQUE DANS LES SÉRUMS SPÉCIFIQUES

Cette dernière expérience fait poser les deux questions suivantes :

1° Le mécanisme d'empêchement de l'hémolyse est-il le même en présence des bacilles (tube *c*) qu'en leur absence (tube *e*) ?

2° Quel est ce mécanisme ?

Mais avant d'aborder ces deux questions dont l'importance est capitale, voyons si cette propriété antihémolytique se retrouve dans d'autres sérums antityphiques.

Nous avons examiné plusieurs sérums, mais comme le résultat de nos recherches a été presque toujours le même, nous nous bornerons ici, pour la démonstration, à choisir quelques-unes de nos expériences. Prenons un autre échantillon du même mouton-3-décembre, deux échantillons (de juillet et de décembre) d'un cheval désigné « Boulanger », immunisé contre le bacille d'Eberth et enfin le même sérum de mouton-3-juillet, qui nous a déjà servi pour les expériences précédentes.

La composition des mélanges ainsi que les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau suivant qui nous dispense de toute explication.

Faisons remarquer seulement que les mélanges reçoivent ces globules sensibilisés à 3 heures, et que chacune des trois séries de l'expérience diffère des autres par la dose d'alexine que ses tubes reçoivent.

Tableau 3

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine de cobaye.	Emulsion de bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 pour 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	OBSERVATIONS à 4 h.	à 5 h.	24 heur. après.	
				Gouttes						
1	—	—	Quatre gouttes d'Alexine à 1/2 pour chaque tube.	—	28	4	++	++	++	Première Série.
2	—	—		10	18	4	+|	++	++	
3	Boulanger juillet.	18		10	—	4	0	0	0	
4	Boulanger décembre.	18		10	—	4	0	0	0	
5	Mouton 3 juillet.	18		10	—	4	0	0	0	
6	Mouton 3 décembre.	18		10	—	4	+	+|	++	
7	Cheval neuf chauffé à 56°.	18		10	—	4	+|	++	++	
8	Mouton neuf chauffé à 56°.	18		10	—	4	++	++	++	
9	Boulanger juillet.	18		—	10	4	+|	++	++	
10	Boulanger décembre.	18		—	10	4	++	++	++	
11	Mouton 3 juillet.	18		—	10	4	0	0	0	
12	Mouton 3 décembre.	18		—	10	4	++	++	++	
13	Cheval neuf chauffé à 56°.	18		—	10		++	++	++	
14	Mouton neuf chauffé à 56°.	18		—	10	4	++	++	++	

Tableau 3 (*bis*).

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine de cobaye.	Emulsion de bacilles d'Eberth en gouttes	Eau salée à 8 pour 100 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	OBSERVATIONS à 4 h.	à 5. h.	24 heur. après.	
				Gouttes						
15	—	—	Quatre gouttes d'Alexine à 1.5 pour chaque tube.	—	28	4	++	++	++	Deuxième Série.
16	—	—		10	18	4	+	+ |	+ |	
17	Boulanger juillet.	18		10	—	4	0	0	0	
18	Boulanger décembre.	18		10	—	4	0	0	0	
19	Mouton 3 juillet.	18		10	—	4	0	0	0	
20	Mouton 3 décembre.	18		10	—	1	0	0	0	
21	Cheval neuf chauffé à 56°.	18		10	—	4	0	0	0	
22	Mouton neuf chauffé à 56°.	18		10	—	1	0	0	0	
23	Boulanger juillet.	18		—	10	4	0	0	0	
24	Boulanger décembre.	18		—	10	4	+	+ |	++	
25	Mouton 3 juillet.	18		—	10	4	0	0	0	
26	Mouton 3 décembre.	18		—	10	4	0	+	+	
27	Cheval neuf chauffé à 56°.	18		—	10	4	0	+	+	
28	Mouton neuf chauffé à 56°.	18		—	10	1	0	+ |	++	

Tableau 3 (*ter*).

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine de cobaye.	Émulsion de bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 pour 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	OBSERVATIONS. à 4 h.	à 5 h	24 h. après.	
				Gouttes						
29	—	—	Quatre gouttes d'alexine à 3/20e pour chaque tube.	—	28	4	++	++	++	Troisième Série.
30	—	—		10	18	4	0	0	0	
31	Boulanger juillet.	18		10	—	4	0	0	0	
32	Boulanger décembre.	18		10	—	4	0	0	0	
33	Mouton 3 juillet.	18		10	—	4	0	0	0	
34	Mouton 3 décembre.	18		10	—	4	0	0	0	
35	Cheval neuf chauffé à 56°.	18		10	—	4	0	0	0	
36	Mouton neuf chauffé à 56°.	18		10	—	4	0	0	0	
37	Boulanger juillet.	18		—	10	4	0	0	0	
38	Boulanger décembre.	18		—	10	4	0	+	+	
39	Mouton 3 juillet.	18		—	10	4	0	0	0	
40	Mouton 3 décembre.	18		—	10	4	0	+	+	
41	Cheval neuf chauffé à 56°.	18		—	10	4	0	+	+	
42	Mouton neuf chauffé à 56°.	18		—	10	4	0	+	++	

Ce tableau nous démontre, avec une netteté remarquable, plusieurs faits intéressants. Notons en passant que tous les tubes (1, 15, 29) qui ne contiennent que de l'alexine seule, nous présentent une hémolyse aussi rapide que complète, indépendamment de la dilution de l'alexine à 1/2, à 1/5 ou à 3/20. Voyons tout d'abord les tubes qui ne contiennent que des bacilles (2, 16 et 30) avec alexine, bien entendu.

Dans le tube 2, avec alexine à 1/2, les bacilles sont incapables d'empêcher l'hémolyse : elle est complète ; dans le tube 16 avec l'alexine à 1/5, l'hémolyse est encore presque complète, mais retardée ; dans le tube 30 où il n'y a que quatre gouttes d'alexine diluée à 3/20, l'hémolyse est nulle. Qu'est-ce que cela veut dire ? Cela veut dire que non seulement les bacilles seuls sont capables d'absorber l'alexine, mais, de plus, qu'ils n'en absorbent qu'une quantité plus ou moins déterminée. Il est utile de déterminer cette quantité d'alexine absorbée par 10 gouttes de notre émulsion de bacilles d'Eberth ; cela nous servira de critérium pour juger les résultats observés dans les autres tubes où à côté des sérums se trouvent les bacilles.

Dans le tube 30, nous avons introduit 4 gouttes d'alexine diluée au 3/20, qui correspond à 0,6 goutte de sérum alexique pur ; or, dans ce tube, l'hémolyse est nulle ; par conséquent, 10 gouttes de notre émulsion de bacilles ont absorbé 0,6 goutte d'alexine pure. Nous tiendrons compte de ce fait dans l'interprétation des résultats de cette expérience. Remarquons, ici, tout de suite, une chose qui découle de ce que nous venons de dire : c'est la quantité nécessaire d'alexine pure pour produire la dissolution de 4 gouttes de globules sensibilisés que nous introduisons dans nos tubes. Le tube 16, où l'hémolyse est presque complète, reçoit 4 gouttes d'alexine diluée au 1/5 qui corres-

pond à 0,8 de goutte d'alexine pure ; comme les 10 gouttes d'émulsion de bacilles fixent 0,6 de goutte d'alexine pure, nous concluons que 0,2 de goutte d'alexine pure seraient suffisantes pour produire la dissolution complète des globules dans notre expérience.

Prenons tout d'abord cette série de tubes du présent tableau qui ont reçu 4 gouttes d'alexine diluées au 1/2. Tous les mélanges qui contiennent des sérums des animaux immunisés (3, 4, 5), sauf le 6, en présence des bacilles, empêchent complètement l'hémolyse. Ni les bacilles seuls (2), ni les sérums d'animaux neufs, soit seuls (13, 14), soit en présence de bacilles (7, 8), ni même les sérums des animaux immunisés seuls, sans bacilles (9, 10, 12), sauf le sérum du mouton-3-juillet (11), n'empêchent point l'hémolyse : dans tous ces mélanges, les globules sont dissous aussi complètement que dans le tube qui ne contient que l'alexine seule (1).

Les tubes 3 et 4 nous présentent donc un exemple classique de la réaction de fixation de Bordet ; par conséquent, nous concluons immédiatement que nos sérums de « Boulanger » du mois de juillet, aussi bien que ceux du mois de décembre contiennent tous les deux une sensibilisatrice pour les bacilles d'Eberth.

Le sérum du mouton-3-décembre (6) n'empêchant point l'hémolyse en présence de bacilles, nous sommes en droit de conclure, au moins provisoirement, qu'il ne contient pas de sensibilisatrice. En ce qui concerne le sérum du mouton-3-juillet, il empêche bien l'hémolyse en présence des bacilles (5), mais comme il le fait autant sans bacilles (11), nous ne pouvons pas affirmer que c'est la sensibilisatrice qui est en cause dans cet empêchement.

Ces conclusions tirées, occupons-nous maintenant de deux autres séries de tubes.

Tous les mélanges de ces deux séries, correspondant aux mélanges qui ont empêché l'hémolyse dans la première série, l'empêcheront ici davantage, car il y a moins d'alexine.

Par conséquent, nous n'examinerons plus les tubes 17, 18, 19 et 25 de la deuxième série, et les tubes correspondant de la troisième.

Le sérum du mouton-3-décembre, en présence de bacilles (20), empêche l'hémolyse, tandis que ce sérum seul ne l'empêche que très peu ; faut-il conclure que ce sérum contient une sensibilisatrice en quantité naturellement moindre que les sérums de « Boulanger » ? Non, parce que le sérum du mouton neuf (22), qui sert de témoin, en présence de bacilles, l'empêche lui aussi.

Peut-être le sérum du mouton neuf contient-il lui-même une sensibilisatrice pour les bacilles d'Eberth ? Ce sérum neuf, sans bacilles, n'empêche pas l'hémolyse, même avec alexine diluée au 3/20 (42) ; or, nous avons noté que 0,2 de goutte d'alexine pure suffirait pour produire la dissolution complète des globules que nous introduisons dans nos tubes ; nous pouvons donc affirmer que, dans le mélange 42, il restait 0,2 de goutte d'alexine pure, mais nous ne savons pas s'il en restait davantage ; en d'autres termes, nous ne savons pas si le sérum de mouton neuf a fixé 0,1 ou 0,4 de goutte d'alexine pure. Le retard marqué de l'hémolyse nous permet d'admettre que les globules sensibilisés n'ont pas retrouvé la totalité d'alexine (0,6) introduite dans ce tube. Supposons que ce sérum ait fixé 0,2 de goutte d'alexine pure ; ces 0,2, avec 0,6, fixés par les bacilles seuls, feraient les 0,8 de goutte d'alexine pure, c'est-à-dire la totalité d'alexine pure introduite dans le tube 22, de telle sorte que ce dernier mélange n'aurait pas besoin de la sensibilisatrice pour empêcher complètement l'hémolyse.

En tout cas, n'étant pas fixé sur la quantité d'alexine

neutralisée par le sérum seul du mouton neuf, nous nous réservons de nous prononcer sur l'existence ou la non-existence de la sensibilisatrice naturelle pour le bacille d'Eberth dans le sérum du mouton.

Malgré cela, nous pouvons affirmer que l'empêchement de l'hémolyse dans le tube 20 n'est pas dû à la présence de la sensibilisatrice dans ce mélange.

En effet, le même sérum mouton-3-décembre seul, avec alexine au 3/20 (40), ne permet qu'une hémolyse incomplète ; donc, nous pouvons dire que ce mélange ne contenait même pas 0,2 de goutte d'alexine libre, et que le reste de celle-ci (0,4 de goutte au moins), serait fixé par le sérum seul. Ces 0,4, avec 0,6, fixés par les bacilles, font déjà 1 goutte d'alexine pure, quantité que nous n'avons pas même introduite dans le tube 20.

Nous pouvons donc conclure définitivement que le sérum mouton-3-décembre ne contient pas de sensibilisatrice, et que ce même sérum, seul, fait disparaître du mélange une partie déterminée d'alexine.

Le sérum de cheval neuf, en présence de bacilles (21), empêche lui aussi l'hémolyse, mais les mêmes considérations de tout à l'heure nous autorisent à conclure que le sérum du cheval neuf ne contient pas non plus la sensibilisatrice pour le bacille typhique.

Le tube 41 nous démontre en même temps que le sérum du cheval neuf fait disparaître une partie d'alexine du mélange.

Le tube 23 montre nettement que le sérum Boulanger-juillet, seul, fixe une quantité assez notable d'alexine.

Enfin, le tube 38 démontre que le sérum Boulanger-décembre fixe lui aussi, à peu près, la même quantité d'alexine que le sérum du cheval neuf.

En somme, ces résultats peuvent être résumés de la façon suivante :

1° *Les bacilles d'Eberth, seuls, fixent l'alexine ; la quantité d'alexine fixée est plus ou moins déterminée pour la même quantité de bacilles.*

2° *Les deux sérums antityphiques, notamment le sérum Boulanger-juillet et Boulanger-décembre, contiennent l'un et l'autre une sensibilisatrice pour les bacilles d'Eberth.*

3° *Le sérum mouton-3-décembre ne contient pas de traces de sensibilisatrice pour le bacille typhique.*

4° *Etant donné que le sérum mouton-3-juillet empêche l'hémolyse sans bacilles, nous ne pouvons pas affirmer que l'empêchement d'hémolyse, en présence des bacilles, est dû à la présence de la sensibilisatrice.*

5° *Le sérum du cheval neuf ne contient pas la sensibilisatrice pour le bacille typhique.*

6° *Le sérum du mouton neuf ne contient probablement pas, non plus, la sensibilisatrice pour le bacille d'Eberth.*

7° *Tous les sérums, dans notre expérience, seuls, sans bacilles, empêchent l'hémolyse, les uns complètement, les autres partiellement, avec des doses différentes d'alexine. A ce point de vue, ce sont les sérums des animaux immunisés* (11, 23), *qui se montrent les plus actifs, tandis que les sérums des animaux neufs, notamment celui du mouton neuf, n'empêchent que très faiblement* (1).

En procédant ainsi, nous sommes arrivé à déceler cette

---

(1) Nous avons observé dans quelques cas rares que le pouvoir antihémolytique des sérums des animaux neufs est assez fort, parfois supérieur à celui des animaux vaccinés. Nous avons remarqué en outre dans d'autres expériences que le même sujet ne fournit pas des sérums toujours d'une même qualité au point de vue du pouvoir antihémolytique. Ce dernier oscille dans des limites assez considérables dans des différents échantillons du même sujet.

substance antihémolytique dans tous les sérums antityphiques examinés.

Il était naturel, après tout cela, de se demander si cette substance n'existait pas dans les sérums des convalescents de la fièvre typhoïde.

Nous avons examiné pour cela les sérums de deux malades. Or, tous les deux sérums se montrèrent très fortement antihémolytiques, et l'un d'eux arrêtait complètement l'hémolyse, même quand il était dilué à 1/10.

On voit donc que ce pouvoir antihémolytique n'est pas l'apanage du sérum des animaux immunisés ou non immunisés, mais se retrouve aussi bien dans les sérums de l'homme infecté.

Nous avons examiné, en outre, les sérums des animaux immunisés, non plus contre le bacille d'Eberth, mais contre le bacille de Lœffler par exemple.

Nous avons examiné, en même temps, un sérum antitétanique.

Le tableau ci-dessous démontre les résultats :

Tableau 4

TUBES	SERUMS EN GOUTTES		Alexine 1/2	Eau salée 8 p. 1000 en gouttes	Globules sensibilisés en gouttes	Résultats observés
1	—	—	8	28	4	+ +
2	Antidiphtérique chauffé à 56°	18	8	10	4	+
3	Antitétanique chauffé à 56°	18	8	10	4	+
4	Cheval neuf chauffé à 56°	18	8	10	4	+
5	—	—	Alexine 1/3 8	28	4	+
6	Antidiphtérique chauffé à 56°	18	8	10	4	0
7	Antitétanique chauffé à 56°	18	8	10	4	0
8	Cheval neuf chauffé à 56°	18	8	10	4	+

Le pouvoir antihémolytique dans les sérums antidiphtérique et antitétanique est très marqué, tandis qu'il est presque nul dans le sérum du cheval neuf.

Ces expériences nous démontrent donc que le pouvoir antihémolytique se rencontre, non seulement dans les sérums des animaux et de l'homme, ayant eu quelques rapports avec les bacilles d'Eberth, mais bien aussi dans les sérums des animaux immunisés contre les microbes autres

que le bacille d'Eberth, ainsi que dans le sérum des animaux neufs.

Nous avons eu, en outre, l'occasion d'examiner le sérum d'un malade atteint de syphilis, et l'expérience nous a démontré que ce sérum n'échappe pas à la règle qui paraît être assez générale : ce sérum s'est montré antihémolytique.

Toutes ces données expérimentales nous amènent à formuler les conclusions suivantes :

1° *Presque tous les immunsérums ou les sérums des animaux neufs ainsi que de l'homme, contiennent des substances antihémolytiques.*

2° *Les immunsérums sont généralement plus riches en substances antihémolytiques que les sérums neufs ; mais l'inverse s'observe aussi, et, par conséquent, ce pouvoir ne paraît pas nécessairement lié avec l'immunisation.*

3° *Il n'existe pas un rapport constant quelconque entre le pouvoir sensibilisateur et le pouvoir antihémolytique des sérums.*

4° *Etant donné qu'un même animal, à différentes époques, fournit des sérums tantôt fortement, tantôt faiblement antihémolytiques, démontre que cette propriété des sérums, quoiqu'un peu augmentée sous l'influence de l'infection, est liée dans ses variations à des changements indépendants de l'invasion microbienne.*

CHAPITRE III

LA SUBSTANCE ANTIHÉMOLYTIQUE EST UNE ANTIALEXINE

Il est temps de revenir sur la question que nous avons formulée dans le chapitre précédent, à savoir :

1° Par quel mécanisme la substance antihémolytique empêche-t-elle l'hémolyse ?

2° Le sérum, seul, empêche-t-il l'hémolyse par le même mécanisme que le sérum en présence des bacilles, dont il contient la sensibilisatrice spécifique ?

On pourrait admettre plusieurs hypothèses.

On pourrait supposer tout d'abord que les sérums contiennent une antisensibilisatrice pour les globules sensibilisés.

En effet, nous introduisons dans nos tubes d'expériences des globules bien sensibilisés, c'est-à-dire préparés à l'action de l'alexine qui se porte sur eux et les détruit quand elle se trouve à l'état libre dans le mélange ; mais supposons qu'un sérum de nos mélanges contienne une substance qui neutralise la sensibilisatrice fixée sur les globules dès que ceux-ci sont introduits dans le mélange. Les globules, guéris pour ainsi dire, peuvent bien baigner dans le sérum contenant l'alexine libre et rester intacts des jours entiers.

C'est possible ; mais avant de l'admettre, il faut le véri-

fier pour que l'expérience le prouve. Composons nos mélanges d'une façon suivante :

Tableau 5

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine lapin pure en gouttes.	Emulsion des bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 p. 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	Résultats observés
1	—	—	8	—	28	4	++
2	—	—	8	10	18	4	++
3	Mouton 3 juillet chauffé à 56°	18	8	10	—	4	0
4	Mouton 3 juillet chauffé à 56°	18	8	—	10	4	++
TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		alexine lapin 1/2 en gouttes	Emulsion des bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 pour 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	Résultats observés.
5	—	—	8	—	28	4	++
6	—	—	8	10	18	4	++
7	Mouton 3 juillet chauffé à 56°	18	8	10	—	4	0
8	Mouton 3 juillet chauffé à 56°	18	8	—	10	4	0

Ce tableau nous montre ce que nous avons déjà vu plusieurs fois, c'est-à-dire que le mouton-3-juillet contenait la substance antihémolytique en quantité plus considérables que tous les sérums que nous avons examinés, et c'est pour cela que nous l'avons choisi pour cette expérience. Mais remarquons en passant que cette expérience nous démontre aussi ce que nous n'avons pas tranché dans les expériences précédentes. C'est la présence de la sensibilisatrice dans ce sérum. En effet, les tubes 1, 2, 3, 4 nous présentent un tableau des plus nets de la réaction de fixation de Bordet. Admettons donc la présence de la sensibilisatrice dans ce sérum et passons aux tubes 7 et 8 qui sont autrement intéressants. Ces deux mélanges avec l'alexine diluée à 1/2 empêchent complètement l'hémolyse, et au bout de 12 heures encore les globules sont agglutinés et ramassés au fond des tubes. Tous les restes du mélange gardent la couleur et la limpidité du sérum seul du mouton-3. Séparons les sérums dans ces deux tubes de ces globules restés au fond. Délayons les globules dans la même quantité d'eau salée. D'autre part, ajoutons aux deux sérums, ainsi décantés, quatre gouttes des globules sensibilisés. Deux heures après, ajoutons à chacun de nos nouveaux mélanges quatre gouttes d'alexine de lapin.

Après 5 minutes, on observe déjà des résultats que nous résumons dans le tableau suivant :

Tableau 6

TUBES		Eau salée 8 pour 1000.	Globules sensibilisés introduits à 8 h. 30	jusqu'à 10 h. 30	Alexine 1/2 introduite à 10 heures 30	RÉSULTATS à 11 h. 35.	à 11 h. 45.	à 12 h.	à 12 h. 30.
a	Globules rouges du tube 7.	28	—	0	1 g.	0	0	0	++
b	Globules rouges du tube 8.	28	—	0	1	++	++	++	++
c	Sérum décanté du tube 7.	—	1 g.	0	1	0	0	++	++
d	Sérum décanté du tube 8.	—	1	0	1	0	++	++	++

Supposons que cette substance antihémolytique soit une antisensibilisatrice ; comme dans le tube 8 il n'y a pas de trace d'hémolyse, nous pouvons admettre que cette antisensibilisatrice était en quantité juste pour neutraliser la sensibilisatrice des globules, et alors le sérum décanté sera dépourvu de l'antisensibilisatrice ; ou bien cette dernière était en excès, et alors le sérum décanté en possèdera encore. Dans les deux cas, la sensibilisatrice des globules rouges sera neutralisée, et par cela même, l'alexine restera libre dans le sérum. Introduisons les globules sensibilisés dans le tube *d* ; si l'antisensibilisatrice était en quantité juste pour neutraliser la sensibilisatrice des globules rouges introduits dans le tube 8, le tube *d* en sera dépourvu, et les globules sensibilisés introduits à 8 h. 30 doivent subir l'action destructive de l'alexine restée libre. Or, à 10 h. 30

il n'y a pas encore la moindre trace de manifestation de l'hémolyse.

Mais peut-être l'antisensibilisatrice était en excès, et le sérum décanté serait alors assez riche de cette substance pour neutraliser, cette fois aussi, la sensibilisatrice des globules nouvellement ajoutés.

Introduisons, à 10 h. 30, dans le tube *d* 4 gouttes d'alexine de lapin, et comme les globules de ce tube seront déjà guéris par l'excès de l'antisensibilisatrice, ils resteront intacts en présence de l'alexine libre. Or, comme on le voit dans le tableau 5, l'hémolyse est complète dans 15 minutes.

Avant de rejeter définitivement cette hypothèse de l'antisensibilisatrice, voyons si vraiment les globules du tube 8 sont guéris.

Ajoutons pour cela dans le tube *b* 4 gouttes d'alexine de lapin ; comme résultat, on voit une hémolyse complète au bout de 5 minutes. Les globules n'ont pas, par conséquent, perdu leur sensibilisatrice.

Tout cela nous amène à conclure que ce n'est pas par neutralisation de la sensibilisatrice des globules rouges, (car ils restent sensibilisés), que le sérum empêche l'hémolyse, mais bien par la privation du mélange de l'alexine libre. Nos dernières expériences nous démontrent clairement que c'est l'alexine qui fait défaut et non pas la sensibilisatrice.

Nous sommes donc maintenant mieux fixé sur le mécanisme de l'empêchement de l'hémolyse par les sérums : c'est par la neutralisation de l'alexine même qu'ils empêchent l'hémolyse.

Mais quel élément de ces sérums intervient dans ce processus de neutralisation de l'alexine ?

Comme nous l'avons vu, cette substance antihémolytique

est, dans la plupart des cas, plus abondante dans les sérums des sujets immunisés. Or, depuis les travaux bien connus de MM. Bordet et Gengou, nous sommes habitués à répéter que presque tous les immunsérums contiennent au moins une sensibilisatrice spécifique. D'où la supposition que peut-être c'est la sensibilisatrice même qui neutralise l'alexine, et, par cela même, empêche l'hémolyse. Et cette hypothèse vient à l'esprit d'autant plus facilement que d'après la théorie d'Ehrlich, la sensibilisatrice toute seule serait capable de se combiner avec l'alexine. Et comme, d'autre part, on a cru constater la présence de sensibilisatrices spécifiques dans beaucoup de sérums neufs, cette hypothèse devient admissible aussi pour les sérums des animaux neufs.

Avancée par MM. Neisser et Wechsberg sous le nom de la « *déviation du complément* » (komplementablenkung), cette hypothèse a été acceptée par plusieurs savants allemands.

Voyons donc si c'est vraiment la sensibilisatrice qui neutralise l'alexine dans nos expériences.

Prenons pour cela deux sérums antityphiques fournis tous les deux par le cheval appelé *Croquet* (1), et préparons nos mélanges comme l'indique le tableau suivant :

---

(1) Ces deux sérums, dans plusieurs expériences qui ne présentent aucun intérêt d'être reproduites ici, nous ont fourni des exemples de la réaction de fixation de Bordet des plus nets : donc ils contiennent une sensibilisatrice pour les bacilles d'Eberth.

Tableau 7

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine lapin pure en gouttes.	Emulsion de bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 pour 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	OBSERVATIONS	
							1 heure après.	12 heur après.
1	—	—	8	—	28	4	++	++
2	—	—	8	10	18	4	++	++
3	Croquet - juillet chauffé à 56°.	18	8	10	—	4	0	0
4	Croquet - décembre chauffé à 56°.	18	8	10	—	4	0	0
5	Croquet - juillet chauffé à 56°.	18	8	—	10	4	+	++
6	Croquet - décembre chauffé à 56°.	18	8	—	10	4	0	+
7	Croquet - décembre chauffé à 60°.	18	8	10	—	4	0	0
8	Croquet - décembre chauffé à 60°.	18	8	—	10	4	++	++
9	Croquet - décembre chauffé à 65°.	18	8	10	—	4	0	0
10	Croquet - décembre chauffé à 65°.	18	8	—	10	4	++	++
11	Croquet - juillet chauffé à 65°.	18	8	10	—	4	0	0

Tableau 7 (*suite*)

TUBES	SÉRUMS EN GOUTTES		Alexine lapin 1re en gouttes.	Emulsion de bacilles d'Eberth en gouttes.	Eau salée à 8 pour 1000 en gouttes.	Globules sensibilisés en gouttes.	OBSERVATIONS 24 heures après.
12	—	—	8	—	28	4	+ +
13	—	—	8	10	18	4	+ +
14	Croquet - juin chauffé à 56°.	18	8	10	—	4	0
15	Croquet - décembre chauffé à 56°.	18	8	10	—	4	0
16	Croquet - juin chauffé à 56°.	18	8	—	10	4	0
17	Croquet - décembre chauffé à 56°.	18	8	—	10	4	0
18	Croquet - décembre chauffé à 60°.	18	8	10	—	4	0
19	Croquet - décembre chauffé à 60°.	18	8	—	10	4	+ +
20	Croquet - décembre chauffé à 65°.	18	8	10	—	4	0
21	Croquet - décembre chauffé à 65°.	18	8	—	10	4	+ +
22	Croquet - juin chauffé à 65°.	18	8	10	—	4	0

Les deux sérums de *Croquet*, chauffés à 56° pendant une demi-heure, empêchent l'hémolyse avec l'alexine pure en présence des bacilles (3, 4).

Ces mêmes sérums avec la même quantité d'alexine pure, mais sans bacilles (5, 6), ne l'empêchent plus. Nous n'avons pas besoin de conclure ici, par ce fait, à la présence de la sensibilisatrice dans ces sérums : nous l'avons constatée dans d'autres expériences beaucoup mieux disposées pour cette conclusion.

Mais ces tubes ne nous démontrent pas suffisamment la présence de la substance antihémolytique dans les mêmes sérums. Examinons donc des tubes qui ne contiennent qu'une alexine diluée au 1/2. Or, ces tubes (16, 17), nous montrent nettement que ces sérums sont capables d'empêcher l'hémolyse sans concours de bacilles, par conséquent ils contiennent tous les deux la substance antihémolytique. Nous voilà ainsi en présence de deux sérums qui manifestent à la fois deux pouvoirs : le pouvoir sensibilisateur et le pouvoir antihémolytique. Il nous reste à voir maintenant si ces deux pouvoirs ne sont pas des manifestations d'une même substance, la sensibilisatrice.

Examinons pour cela les tubes qui contiennent les mêmes sérums chauffés, non plus à 56°, mais à 60 et 65°.

Dans tous les mélanges qui contiennent les sérums de *Croquet-décembre,* ainsi que de *Croquet-juin,* chauffés soit à 60° (7,18), soit à 65° (9, 11, 20, 22), en présence de bacilles et avec alexine soit pure, soit diluée au 1/2, on voit un empêchement d'hémolyse très complet : donc, la sensibilisatrice est restée intacte.

Au contraire, dans tous les tubes qui contiennent les sérums chauffés à 60 et 65° (8, 10, 19, 21), l'hémolyse est aussi complète et rapide que dans le tube témoin ne contenant que l'alexine seule. Cela démontre que la substance

qui empêchait l'hémolyse sans concours de bacilles, est détruite à ces températures.

Nous pouvons donc résumer le résultat de cette expérience en ces termes : *les deux pouvoirs de ces sérums, pouvoir sensibilisateur et pouvoir antihémolytique, ne sont pas deux manifestations d'une même substance, mais appartiennent à deux substances bien différentes ; l'un, le pouvoir sensibilisateur, est la manifestation de la sensibilisatrice qui résiste au chauffage à* 65° ; *l'autre, le pouvoir antihémolytique, appartient en propre à une autre substance antialexique, détruite par le chauffage à* 60° *et complètement indépendante de la sensibilisatrice* (1).

Nous devons noter ici que le pouvoir antihémolytique n'est que partiellement supprimé dans quelques sérums par le chauffage à 60° ; il n'est nullement modifié dans d'autres. Mais ce qui importe ici, c'est le fait qu'à une certaine température, on puisse dissocier ces deux pouvoirs sensibilisateurs et antihémolytiques, ce qui nous conduit à des conclusions que nous venons de formuler.

Le fait que la substance antialexique est détruite à la température de 60° dans un cas, tandis que dans un autre elle ne l'est qu'à 65°, peut-être même à une température plus élevée (2), signifie tout simplement *qu'il existe des antialexines* et non plus une seule.

Ces antialexines multiples, qui diffèrent par quelques

---

(1) On pourrait tirer à peu près la même conclusion du tableau 3. En effet, dans ce tableau, nous voyons que les sérums qui ne sont pas sensibilisateurs sont tout de même antihémolytiques : donc il y a une indépendance de ces deux pouvoirs.

(2) Les substances qui ont été trouvées par M. Besredka dans les sérums neufs et que nous considérons comme des antialexines se détruiraient, d'après cet auteur, à des températures de 65°, 67° et 68° suivant les sérums.

propriétés propres à chacune d'elles, ont toutes une propriété commune, celle de neutraliser l'alexine.

Si un sérum ne contient qu'une seule antialexine, celle par exemple qui se détruit à la température de 60°, le pouvoir antihémolytique de ce sérum sera complètement supprimé par le chauffage à cette température.

Si un autre sérum contient plusieurs antialexines, celle qui se détruit à la température de 60° étant en quantité prédominante, le pouvoir antihémolytique de ce sérum sera fortement affaibli par le chauffage à 60°, mais pas complètement supprimé.

Si enfin un troisième sérum contenant plusieurs antialexines, est dépourvu de celle qui se détruit à 60°, il conservera entièrement son pouvoir antihémolytique, qui ne sera aboli qu'à une température plus élevée.

CHAPITRE IV

LA VALEUR DE LA MÉTHODE DE LA RÉACTION DE FIXATION DE BORDET DANS LES RECHERCHES DE LA SENSIBILISATRICE MICROBIENNE.

Après avoir tranché la question du mécanisme de l'empêchement de l'hémolyse par le sérum seul sans bacilles, revenons sur l'autre question déjà formulée dans les chapitres précédents : par quel mécanisme se fait l'empêchement de l'hémolyse par un sérum en présence des bacilles ? Nous savons quel est le mécanisme de l'empêchement de l'hémolyse par les sérums seuls : c'est en neutralisant l'alexine par ses antialexines que les sérums arrêtent l'hémolyse.

En ce qui concerne le sérum en présence des bacilles, il faut distinguer deux cas, suivant que le sérum contient ou non la sensibilisatrice pour les bacilles qu'on met en son contact. Prenons le cas où le sérum ne contient pas de sensibilisatrice. Nous savons déjà que les bacilles seuls absorbent ou mieux neutralisent une quantité d'alexine plus ou moins déterminée ; le sérum seul, de son côté, neutralise une quantité aussi déterminée d'alexine.

Quand ces deux éléments sont réunis dans un même mélange, chacun d'eux neutralisera une quantité d'alexine qui lui convient et si la quantité d'alexine introduite dans

ce mélange n'est pas supérieure à la somme des quantités d'alexine neutralisée respectivement par ces deux éléments, la destruction des globules sensibilisés introduits dans ce mélange ne se produira pas, vu l'absence de l'alexine libre.

Ainsi, si le bacille seul neutralise une quantité d'alexine, disons 2, le sérum seul 4, la somme des quantités d'alexine neutralisée par ces deux éléments sera 6, et si maintenant, nous ajoutons à ce mélange une quantité d'alexine égale à cette somme 6, ou bien une quantité inférieure à cette somme, toute cette alexine sera neutralisée par l'action totale des bacilles et du sérum, et les globules sensibilisés introduits dans le mélange ne retrouveront plus d'alexine libre : l'hémolyse ne se produira pas. Le sérum, agissant par ses antialexines, l'empêchement de l'hémolyse dans ce cas se fera donc par l'action totale du bacille et des antialexines sur l'alexine. Quant au cas où le sérum contient une sensibilisatrice, nous avons déjà remarqué dans le chapitre précédent que cette sensibilisatrice neutralise l'antialexine microbienne ; les bacilles ne seront plus ici normaux : ils seront modifiés de telle sorte que leur affinité pour l'alexine sera augmentée énormément.

Si les bacilles seuls neutralisent une quantité d'alexine, supposons 2, les bacilles sensibilisés neutraliseront une quantité d'alexine toujours supérieure à ce chiffre 2.

Si le sérum seul neutralise une quantité d'alexine 4, l'action totale des bacilles non sensibilisés et des antialexines du sérum se traduira par le chiffre 6.

Le même sérum mélangé avec les mêmes bacilles, qui par le fait même sont sensibilisés, neutralisera une quantité d'alexine supérieure au chiffre 6.

Supposons que cette quantité soit 10 ; la différence entre 10 et 6 traduira l'action de la sensibilisatrice.

Appelons la somme (6) qu'on obtient en additionnant la quantité d'alexine neutralisée par les bacilles seuls (2) avec la quantité d'alexine neutralisée par le sérum seul (4), « *action totale séparée* », et la quantité d'alexine neutralisée par les mêmes éléments mis en contact, « *action totale combinée* ». Eh bien, de tout ce que nous venons de dire ressort nettement, *qu'on n'est jamais autorisé à conclure à la présence de la sensibilisatrice dans un sérum donné tant que « l'action totale combinée » ne s'est pas montrée supérieure à « l'action totale séparée »*.

Ces constatations nous amènent fatalement à examiner la valeur de la méthode de M. Bordet dans les recherches de la sensibilisatrice dans le sérum.

On connaît en quoi consiste cette méthode. Nous l'avons exposé dans la première partie de cette thèse.

Rappelons seulement que M. Bordet employa pour l'expérience de la réaction de fixation une seule série de six tubes. Ne parlons pas des deux derniers tubes (*e, f*) de cette série qui, ne contenant pas d'alexine, n'ont aucune valeur (d'ailleurs, ces deux tubes ne sont plus employés aujourd'hui), et examinons très brièvement la composition des quatre premiers tubes de la série.

Le tube *a* contient un immunsérum dans lequel on cherche la sensibilisatrice, + le bacille correspondant, + l'alexine.

Le tube *b* = bacille + sérum neuf + alexine
Le tube *c* = — immunsérum + alexine
Le tube *d* = — sérum neuf + alexine

Dans cette série de tubes, nous n'en voyons pas un qui contienne le bacille seul ; par conséquent, il sera impossible

de déterminer la quantité d'alexine neutralisée par les bacilles seuls.

Le tube *c* contient l'immunsérum seul.

N'employant qu'une seule dose d'alexine, il est impossible de déterminer avec le mélange *c* la quantité d'alexine neutralisée par les antialexines de l'immunsérum. Or, si on ne connaît pas les parts qui reviennent aux bacilles et aux antialexines dans la neutralisation de l'alexine, il sera impossible de déterminer ce que nous avons appelé « l'action totale séparée ».

Supposons maintenant que la réaction de fixation est positive, c'est-à-dire que l'hémolyse est complètement empêchée dans le tube *a*, en même temps qu'on observe une belle hémolyse dans les autres tubes.

Que doit-on conclure de ce fait expérimental ? On aurait conclu qu'on est en présence de « l'action sensibilisatrice ».

Or, nous ne pouvons conclure, d'après notre façon de voir, qu'une chose, que nous sommes en présence de « *l'action totale combinée* », qui est loin d'être synonyme de « *l'action sensibilisatrice* ».

Pour que nous puissions affirmer la présence de la sensibilisatrice, il faudrait savoir que cette « action totale combinée » est supérieure à « l'action totale séparée », ce que cette méthode ne nous permet pas d'établir.

Mais on nous objectera que la différence entre les tubes *a* et *b* peut suffire pour affirmer la présence de la sensibilisatrice dans l'immunsérum. Si on était sûr que la quantité des antialexines est égale dans les deux sérums très différents, on pourrait alors attribuer cette supériorité de l'action antihémolytique de l'immunsérum à la présence de la sensibilisatrice ; or, nous savons déjà que la quantité d'antialexine change, non seulement d'un sujet à l'autre,

mais qu'elle n'est pas toujours en même quantité dans les divers échantillons du même sujet.

Nous avons vu que « l'action totale combinée » est constituée par l'action combinée des bacilles et du sérum sur l'alexine ; avec une dose déterminée d'alexine, il peut arriver que, ni les bacilles seuls, ni le sérum seul, ne soient capables d'empêcher l'hémolyse, mais une fois ces deux actions combinées, le pouvoir antihémolytique du mélange peut devenir suffisant pour empêcher complètement l'hémolyse sans aucun concours de la sensibilisatrice.

« L'action totale combinée » peut donc nous indiquer seulement que le pouvoir antihémolytique du mélange est devenu assez fort pour neutraliser la totalité de l'alexine qu'il contient, mais elle ne peut en aucune façon, toute seule, nous renseigner, si les bacilles sont sensibilisés ou non.

Les tubes de l'expérience, composés suivant l'indication des fondateurs de la méthode de la réaction de fixation, peuvent donc nous présenter un tableau de cette réaction des plus nets, sans que le sérum contienne de trace de la sensibilisatrice.

Concluons donc que cette méthode est susceptible d'amener à de fausses conclusions, notamment de faire croire à la présence de la sensibilisatrice là où elle n'existe pas en réalité ; c'est ce qui explique peut-être la facilité avec laquelle on retrouve cette substance presque partout où on la cherche.

Nous sommes persuadé que si on appliquait notre manière de voir à tant de découvertes de la sensibilisatrice, au lieu de celle-ci, naturelle ou artificielle, on n'aurait trouvé que des antialexines dans presque tous les sérums neufs et dans un bon nombre d'immunsérums.

On sait en quoi consiste notre technique : nous l'avons

appliquée dans l'expérience rapportée dans le tableau III et exposée en partie dans l'interprétation des résultats observés.

Au lieu d'une série de tubes, nous en employons plusieurs, différant les unes des autres par la dose d'alexine que les tubes de chaque série reçoivent.

Chaque série est composée de 4 tubes :

Les tubes *a* contiennent l'alexine seule (c'est le tube témoin).
Les tubes *b* contiennent alexine + bacilles.
Les tubes *c* contiennent alexine + bacilles + sérum.
Les tubes *d* contiennent alexine + sérum.

A l'aide des tubes *b*, nous déterminons la quantité d'alexine neutralisée par les bacilles seuls.

Les tubes *d* nous permettent de déterminer la quantité d'alexine neutralisée par les antialexines du sérum.

De ces données, nous obtenons « *l'action totale séparée* ».

Les tubes *c* nous fournissent « l'action totale combinée ».

En comparant ces deux « actions totales », nous concluons à la présence ou à l'absence de la sensibilisatrice dans le sérum donné.

Dans le tableau III, nous avons employé les sérums neufs, non plus comme témoins, mais pour observer leur action antihémolytique ou sensibilisatrice.

Et nous trouvons tout à fait inutile et même troublant l'emploi des sérums neufs témoins.

En effet, nous savons que les sérums neufs et les immunsérums ne sont pas identiques au point de vue de leur teneur en substances antialexiques ; celles-ci intervenant dans la manifestation de l'action antihémolytique du mélange, on ne peut pas contrôler un sérum par l'autre, chacun d'eux pouvant agir différemment.

TROISIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

ORIGINE DES ANTIALEXINES

D'où viennent les antialexines ?

Déjà M. Büchner a observé que le sang dans lequel on provoque la destruction des globules rouges par une série de gels et de dégels successifs, ne conserve point trace de son influence nocive sur les bactéries, tandis que le sérum privé des cellules traitées de la même façon, ne perd rien de son pouvoir.

Nous savons que le pouvoir bactéricide du sérum normal est dû à la présence de l'alexine. Si un sérum privé des cellules, comme l'a observé M. Büchner, tue les microbes, tandis que le même sérum, mélangé avec des produits de destruction des globules rouges, est dépourvu de ce pouvoir, cela démontre que l'alexine qui a détruit les microbes dans le premier cas avait été rendue inactive, était neutralisée dans l'autre. Par quoi était neutralisée l'alexine ? par le contenu des globules rouges, car les deux mélanges ne diffèrent que par la présence dans l'un d'eux, des produits de destruction de ces globules.

M. Iscovesco a repris tout récemment les recherches sur l'influence des lipoïdes de globules rouges, sur l'hémolyse, étudiée avant par Bang et Forsmann, Dantwitz, Landsteiner, Pascucci, etc. Iscovesco prépare un extrait éthéré des globules rouges et de cet extrait obtient deux substances : l'une soluble dans l'acétone (E. S. A.) (1), et l'autre insoluble dans l'acétone (E. I. A.) (2).

En opérant sur ces substances, il est arrivé aux conclusions suivantes :

« Le lipoïde globulaire E. I. A. provenant du cheval est une antihémolysine ; ce lipoïde est dépourvu de spécificité. Il s'altère avec le temps et son pouvoir antihémolytique est en rapport inverse de son âge. »

Il est possible qu'à côté du lipoïde de Iscovesco, il existe aussi d'autres substances antihémolytiques dans les globules rouges, mais que cela nous suffise pour le moment, et ne pouvant catégoriquement affirmer, nous sommes en droit de supposer que c'était des substances provenant des globules rouges qui neutralisaient l'alexine dans l'expérience de M. Bücliner. Les globules rouges présentent-ils l'unique source des antialexines dans l'économie ?

Erlandsen parle des lipoïdes du cœur et des muscles et de leur influence sur l'hémolyse.

Dungern établit que les organes différents (foie, rein, rate, etc.), provenant de plusieurs mammifères et oiseaux normaux, fixent l'alexine du sérum de lapin.

Levaditi confirme les observations de Dungern et constate de plus que, non seulement des tissus, mais aussi des cellules libres, telles les spermatozoïdes du taureau, fixent le complément hémolytique renfermé dans le sérum du la-

---

(1) E. S. A. indique — extrait soluble dans l'acétone.
(2) E. I. A. — — insoluble dans l'acétone.

pin neuf. De telles données expérimentales découle que les substances antialexiques sont très répandues dans l'économie. Presque toutes les cellules en sont pourvues.

Et cela se comprend. A quoi sert cette antialexine à la cellule ?

Nous ne parlerons pour le moment que des globules rouges. On sait depuis longtemps que le sérum d'un animal détruit les globules rouges provenant d'un animal d'espèce étrangère, en même temps qu'il ne touche pas ses globules propres. Les phagocytes attaquent et englobent les éléments étrangers en général et les globules d'espèce étrangère en particulier, quand ces éléments sont introduits dans l'organisme, et ils respectent ces globules rouges. Sont-ce les sentiments de parenté ou de solidarité qui recommandent au sérum et aux leucocytes de s'abstenir de cet acte envers leurs propres globules ?

Nous ne le croyons pas. D'ailleurs, les leucocytes englobent et digèrent énergiquement tous les globules lésés, morts, mis hors d'usage.

Les globules rouges, ainsi que tous les tissus et cellules de l'organisme, sont respectés tant qu'ils sont vivants, tant que leurs fonctions ne sont pas atteintes, mais il suffit que ces éléments soient morts ou plus simplement que leur vitalité soit affaiblie, pour que les leucocytes ne tardent pas à les utiliser pour leur propre nutrition. On voit ainsi que la résistance des éléments cellulaires de l'organisme à l'action destructive de ses phagocytes et de son propre sérum est liée à la vie même de ces éléments. La vie une fois suspendue, la cellule ne se défend plus, tandis qu'elle se défendait merveilleusement pendant sa vie.

Mais quelles sont les substances contre lesquelles la cellule a besoin de se défendre ?

On sait que les phagocytes digèrent par leurs ferments, parmi lesquels l'alexine est un agent principal.

On sait que le sérum normal n'agit que par ses alexines.

Donc, les alexines, ferments digestifs cellulaires, existant dans le cas normal dans l'intérieur du leucocyte, mais quittant ces éléments dans bien des cas pour passer dans la circulation générale, sont des agents actifs contre lesquels les cellules de l'organisme, toujours baignant dans les humeurs, ont besoin d'être défendues.

Et il est très naturel d'admettre que cette défense cellulaire contre les alexines se fait par des substances sécrétées par presque toutes les cellules de l'économie et capables de neutraliser l'action des alexines, c'est-à-dire par les antialexines.

Nous avons admis l'existence de plusieurs antialexines dans le même sérum, et cette hypothèse se trouve en concordance parfaite avec la pluralité d'origine de ces substances. Les différentes cellules ont leurs fonctions et leurs structures différentes, et il n'y a rien d'étonnant qu'elles sécrètent des substances qui, quoique ayant la même fonction de neutraliser, transformer ou digérer les alexines, se distinguent par quelques-unes de ses propriétés.

CHAPITRE II

MÉCANISME DE L'ACTION COMBINÉE DE LA SENSIBILISATRICE ET DE L'ALEXINE SUR LES ÉLÉMENTS FIGURÉS

Partons du principe que l'introduction dans l'organisme des éléments figurés ou non figurés provoque l'engendrement des anticorps correspondants, et introduisons dans la cavité péritonéale d'un animal les globules rouges d'espèce étrangère.

Les globules rouges, comme toutes les cellules, n'étant pas des corps chimiquement définis, chaque globule nous présente une complexe, constituée des substances liquides ou demi-liquides, très différentes quant à leur structure et leurs propriétés.

Ces substances une fois introduites dans l'organisme étranger, agiront-elles en bloc, c'est-à-dire provoqueront-elles la production d'une seule sensibilisatrice, par exemple, ou bien chaque substance agira-t-elle pour son propre compte et suscitera-t-elle l'apparition dans le sérum des anticorps correspondants à elle seule ?

Les globules injectés sont détruits dans l'organisme traité ; les substances constituantes mises en liberté, il est très naturel d'admettre qu'elles agiront dès lors séparément et que l'organisme répondra à chacune d'elles par la production des anticorps spécifiques.

L'antialexine, une des substances constituant le globule rouge, provoquera la production d'un anticorps spécial, dont la propriété caractéristique sera de neutraliser cette antialexine.

Préparons maintenant un mélange de globules rouges, de sérum frais d'un animal quelconque et le sérum qui contient l'anticorps spécial pour l'antialexine de ces globules.

Qu'est-ce qu'il va se produire ?

L'anticorps (la sensibilisatrice) jouissant d'une affinité toute particulière pour l'antialexine des globules, la neutralisera ; les globules, dépourvus de leur antialexine qui les protégeaient contre l'action de l'alexine, se laisseront détruire par cette dernière.

La sensibilisatrice cytolytique ne serait donc qu'un anticorps de l'antialexine, et son rôle dans le phénomène de cytolyse est de neutraliser cette antialexine cellulaire.

Tout ce que nous venons de dire pour les globules s'applique aussi à tous les éléments cellulaires de l'organisme et même aux microbes, étant donné que toutes les cellules de l'organisme sont pourvues d'antialexines comme les globules rouges.

En ce qui concerne les microbes, les travaux tout récents de M. Axamit ont démontré que l'extrait des microbes fait disparaître l'alexine libre du milieu ambiant. D'autre part, toutes nos expériences nous ont démontré que les microbes sont capables de neutraliser une partie d'alexine.

Ces antialexines microbiennes agiront de même que les antialexines globulaires.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

I — Tous les échantillons de sérum antityphique que nous avons examinés, nous ont donné une réaction de fixation (Bordet-Gengou) positive. Quelquefois le résultat devait être attribué à la présence d'une sensibilisatrice pour le bacille d'Eberth, mais dans la majorité des cas le résultat positif (empêchement de l'hémolyse) ne tenait pas à l'action de la sensibilisatrice.

II. — Le sérum des sujets neufs que nous avons essayé ne contenait pas la sensibilisatrice pour le bacille d'Eberth quoiqu'il nous ait souvent donné une réaction de fixation positive.

III. — Les bacilles d'Eberth seuls sont capables d'empêcher l'hémolyse de globules sensibilisés en fixant l'alexine ; la quantité d'alexine fixée est plus ou moins déterminée.

IV — Les sérums peuvent aussi, seuls et par eux-mêmes en l'absence de microbes ou d'antigène, empêcher l'hémolyse. Tous les sérums que nous avons employés dans nos expériences (antityphiques, antidiphtériques, antitétaniques, sérums des animaux neufs, sérums des typhiques et des syphilitiques) seuls, sans bacilles, empêchent l'hémolyse, les uns complètement, les autres partiellement, avec des doses différentes d'alexine.

V. — Les substances antihémolytiques des sérums sont des antialexines.

VI. — Les immunsérums sont généralement plus riches en substances antialexiques que les sérums neufs, mais l'inverse s'observe aussi, et par conséquent ce pouvoir ne paraît pas nécessairement lié avec l'état d'immunité de l'organisme.

VII. — Il n'existe pas un rapport constant entre le pouvoir sensibilisateur et le pouvoir antialexique des sérums.

VIII. — Étant donné qu'un animal, à différentes époques, fournit des sérums tantôt fortement, tantôt faiblement antialexiques, il semble que cette propriété du sérum, quoique un peu augmentée sous l'influence de l'infection, est liée, dans ses variations, à des changements indépendants de l'invasion microbienne.

IX. — La méthode de la réaction de fixation de Bordet-Gengou, ne tenant pas compte du fait de l'existence des substances antialexiques dans les sérums, et négligeant complètement la part qui revient aux microbes dans le processus de fixation d'alexine, est susceptible de conduire à des fausses conclusions, notamment de faire croire à la présence de la sensibilisatrice là où elle n'existe pas en réalité.

BIBLIOGRAPHIE

Von Christmas-Dirckinck-Holmfeld. — Fortschr. f. Med., 1887, n. 13, p. 401.

Emmerich. — Archiv. für Hygiene, VI, 1887, p. 442-501.

— Fortschr. der Medizin, n. 20, 1887.

Roux et Chamberland. — Immunité contre la septicémie conférée par des substances solubles. An. de l'Inst. Pasteur, 1887, p. 561.

Nuttall. — Zeitschr. f. Hyg., t. IV, p. 353.

Büchner. — Centralbl. f. Bact., t. V, p 817 et VI, p 1, 1889.

— Münch. med. Wochenschrift, 1889, p. 590.

Fodor. — Deutsche medicinische Wochenschrift, 1887, n. 34, p. 745.

Nissen. — Zeitschrift für Hygiene, t. VI, 1889, p. 487.

Massart et Ch. Bordet. — Journal de la Soc. R. des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles, 1890.

Mit. Prudden. — Medical Record, janvier 1890.

Fokker. — Zeitschr. f. Hygiene, vol. IX, 1890.

Ogata et Jasuhara. — Mittheilungen d. Med. Facultat d. Kaiserl. Jap. Universität.

Ogata. — Centralblatt für Bacteriologie, t. IX, 18 et 19.

Roger. — Propriétés bactéricides du sérum pour le streptocoque de l'érysipèle. Semaine médicale, 1890, p. 397.

— Revue gén. des Sciences, 1891, p. 413.

Pfeiffer. — Zeitsch. für Hyg., t. XVII, 1894, p. 1.

Bordet. — Leucocytes et sérum chez les vaccinés. An. In. P. 1895, p. 462.

— Sur le mode d'action des sérums préventifs. An. In. P. 1896, p. 193.

Bordet. — Agglutination et dissolution des hématies. An. In. P. 1898, p. 688.
— Sérums hémolytiques. An. In. P. 1900, p. 257.
Charrin et Roger. — Développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés. Société de Biologie, 1889.
Fraenkel et Sobernheim. — Hygienische Rundschau, 1894.
Nicolle. — Les anticorps. An In. P. 1898, mars.
Pfeiffer et Marx. — Zeitschrift für Hygiene, T. 27, 1890. Deutsche med. Wochenschrift, 1898, n. 3
Deutsch. — Origines des anticorps typhiques. An. In. P. 1899, p. 689.
Ehrlich et Morgenroth. — Berliner Klin. Wochenschr., 1899, n. 1 et 22, 1900, n. 21.
Nolf. — Sérums antihématiques. An. In. P. 1900, p. 297.
— Mecanisme de la globulolyse. An. In. P. 1900, p. 656.
Metchnikoff. — Sur les cytotoxines. An. In. P. 1900, p. 369.
— L'immunité, 1901.
Belfanti et Carbone. — Produzione di sostanze tossiche nel siero di animali inoculati con sangue eterogeneo. Giornale della R. academie di med. di Torino, 1898, n° 8.
Landsteiner. — Centralbl. f. Bacteriol., 1899.
Dungern. — Münch. med. Woch., 1899.
Lindemann — An. In. P. 1900.
Delezenne — Sérums névrotoxiques. An. In. P. 1900, p. 686.
Gengou. — Origines de l'alexine. An. In. P. 1901, p. 68.
Bordet et Gengou. — Substances sensibilisatrices dans les sérums. An. In. P. 1901, p. 289.
Neisser. — Deutsch. med. Wochenschr., 1900, n. 49.
Besredka. — Les antihémolysines naturelles. An. In. P. 1901, p. 785.
Levaditi. — Etat de la cytase dans le plasma. An. In. P. 1901, p. 894.
Tarassévitch. — Sur les cytases. An. In. P. 1902, p 127.
Malvoz. — Fixateur du sérum normal du chien. An. In. P. 1902, p. 625.
Dubois. — Dissociation des sérums spécifiques. An. In. P. 1902, p. 690.
Gengou. — Sensibilisatrices des sérums actifs. An. In. P. 1902, p. 734.
Defalle. — Anticorps des spores. An. In. P. 1902, p. 756.
Levaditi. Hémolysines cellulaires. An. In. P. 1903, p. 187.
Nioni. — Hémolysines naturelles. An. In. P. 1905, p. 84.
Neisser et Wechsberg. — Munchener med. Wochenschrift, 1901, p. 697.

SACHS. — Deutsche med. Woch , 1905, n. 18, p. 705.

PFEIFFER et FRIEDBERGER. — Deutsche med. Woch., 1905, n. 1, p. 1 et n. 29, p. 1145.

FREDERICK P. GAY. — Déviation de l'alexine dans l'hémolyse. An. In. P. 1905, p. 593.

WIDAL et LE SOURD. — Soc. méd. des Hôpitaux, 14 juillet 1901.

LE SOURD. — Thèse de Paris 1902.

KRAUS et SCHIFFMANN. — Origine des anticorps. An. In. P. 1906, p. 225.

SCHMIDT. — Un sérum toxique pour les nerfs périphériques. An. In. P. 1906, p. 601.

WRIGHT et DOUGLAS. — Proceed Royal. Society, 1904, LXXIII, p. 128.

HEKTOEN et RUEDIGER. — Journ of. Infect. Diseases, 2, 1905, p. 128.

BULLOCH et ATKIN. — Proceed. Roy. Society, 74, 1905, p. 379.

LÖHLEIN. — Phagocytose in vitro. An. In. P. 1906, p. 939.

WASSERMANN et PLAUT. — Deutsche med. Woch., vol XXXII, n. 44, 1906, p. 1769.

NEISSER, BRUCK et SCHUCHT. — Deutsche med Woch., vol. XXXII, n. 48, p. 1937.

MARIE et LEVADITI. — Anticorps syphilitiques. An. In. P. 1907, p. 138.

SLEESWIJK. — Etudes des opsonines. An. In. P. 1907, p. 983.

ISCOVESCO. — Société de Biologie 1908, p 269, 324, 404, 548, 675, 677.

KRAUS et LEVADITI. — C R de l'Acad. des Sciences, séance du 5 avril 1904.

WASSERMANN. — Berl. Kl. Woch., 1898, n. 10, p. 209.

LEVADITI. — Les anticorps contre les spirilles de la septicémie des poules. An. In. P. 1904. p. 511.

WASSERMANN. — Zeitschrift für Hygiene. T. XLII, p. 267, 1903.

TOREL. — Zeitschrift für Hygiene. T. XL, p. 363, 1902.

EHRLICH et MORGENROTH. — Berliner Klin. Wochenschrift, 1901, n. 21-22.

MORGENROTH. — Centralb. für Bacteriol Orig. T. XXXV, 1904.

RODET et LAGRIFFOUL. — Sérum antityphique, propriétés bactéricides et antibactéricides, Société de Biologie, 1907, p. 441 et 555.

THEORADI et BADES. — Zeitschr f. Bact. Bd. XXXVIII, S. 663, Bd. XXXIX, S. 62-160.

Lion et Français. — Soc. de Biologie, 1906, n. 15.
Bélonovsky. — Soc. de Biol., 1907, p. 9.
Beauvy et Chirié. — Soc. de Biol., 1907, p. 413.
Rodet et Lagriffoul. — Le sérum antityphique. Presse médicale, 1907, p. 26.
Axamit. — Centralbl. f. Bact. (original), 1906, 42.

Vu et permis d'imprimer
Montpellier, le 16 juillet 1908.
Le Recteur,
Ant. BENOIST.

Vu et approuvé
Montpellier, le 15 juillet 1908.
Le Doyen,
MAIRET.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples, et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !